



**HAL**  
open science

# Imagerie de contraste ionique térahertz Physique statistique des plasmons polaritons de surface.

Jean-Baptiste Masson

► **To cite this version:**

Jean-Baptiste Masson. Imagerie de contraste ionique térahertz Physique statistique des plasmons polaritons de surface.. Physique [physics]. Ecole Polytechnique X, 2007. Français. NNT: . pastel-00002917

**HAL Id: pastel-00002917**

**<https://pastel.hal.science/pastel-00002917>**

Submitted on 27 Jul 2010

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## THESE

présentée pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'ÉCOLE POLYTECHNIQUE**  
**en SCIENCES PHYSIQUES**

Spécialité : Concepts Fondamentaux de la Physique

par

**Jean-Baptiste Masson**

Imagerie de Contraste Ionique térahertz

Physique statistique des plasmons polaritons de surface

Soutenue le devant le jury composé de

MM.

Denis Le Bihan	président
Jean-Louis Coutaz	rapporteur
Brahim Lounis	rapporteur
Thomas Ebbesen	
Massimo Vergassola	
Jean-Louis Martin	
Guilhem Gallot	directeur de thèse



# Table des matières

<b>Remerciements</b>	<b>7</b>
<b>Introduction</b>	<b>9</b>
<b>1 Optique térahertz</b>	<b>13</b>
1.1 Le système expérimental . . . . .	14
1.1.1 Ordres de grandeur . . . . .	14
1.1.2 Présentation du système expérimental . . . . .	14
1.2 Éléments d’optiques et de méthodologie . . . . .	24
1.2.1 La polarimétrie térahertz . . . . .	24
1.2.2 Le dichroïsme circulaire . . . . .	25
1.2.3 La programmation en éléments finis . . . . .	30
1.2.4 Aspects théoriques de la transmission à travers un trou de taille inférieure à la longueur d’onde . . . . .	36
<b>2 Imagerie de contraste ionique térahertz</b>	<b>43</b>
2.1 Introduction . . . . .	43
2.2 Spectroscopie térahertz des ions en solution . . . . .	44
2.2.1 Les cuves à ions . . . . .	46
2.3 Champ proche et contraste de champ proche . . . . .	50
2.3.1 Petit modèle et idées . . . . .	50
2.3.2 Simulations et résultats . . . . .	50
2.4 Imagerie d’axones et imagerie des flux d’eau . . . . .	56
2.4.1 Introduction . . . . .	56
2.4.2 La méthodologie . . . . .	58

2.4.3	La validité de cette imagerie . . . . .	59
2.4.4	Les résultats . . . . .	61
2.4.5	Conclusion . . . . .	65
2.5	Imagerie des flux ioniques dans du muscle cardiaque . . . . .	66
2.5.1	Introduction . . . . .	66
2.5.2	L'expérience . . . . .	66
2.5.3	Les résultats . . . . .	67
2.5.4	Remarques, perspectives et considérations . . . . .	71
2.5.5	Conclusion . . . . .	73
<b>3</b>	<b>Physique statistique des plasmons</b>	<b>75</b>
3.1	Introduction . . . . .	75
3.2	État de l'art et problématiques . . . . .	77
3.3	Modèle de Fano étendu . . . . .	81
3.3.1	L'expérience . . . . .	81
3.3.2	Le modèle . . . . .	81
3.3.3	Conclusion . . . . .	85
3.4	Interaction entre plasmons polaritons . . . . .	85
3.4.1	L'expérience . . . . .	87
3.4.2	La modélisation numérique . . . . .	88
3.4.3	Le modèle . . . . .	91
3.4.4	Conclusion . . . . .	93
3.5	Transition de phase de plasmon polaritons de surface . . . . .	93
3.5.1	Cas limites . . . . .	93
3.5.2	Les expériences . . . . .	94
3.5.3	Les premières bases du modèle . . . . .	96
3.5.4	Le modèle . . . . .	100
3.6	Résonance stochastique de plasmon polariton de surface . . . . .	104
3.6.1	Cas limites . . . . .	105
3.6.2	L'expérience . . . . .	105
3.6.3	La modélisation . . . . .	106
3.6.4	Remarques, perspectives et considérations . . . . .	110

---

3.6.5 Conclusion . . . . .	113
<b>Conclusion</b>	<b>115</b>
<b>A La mesure des ions en biologie</b>	<b>119</b>
A.1 Le dosage . . . . .	119
A.1.1 La colorimétrie . . . . .	119
A.1.2 Par précipité . . . . .	119
A.1.3 Par conductimétrie . . . . .	120
A.2 Sonde de Castaing . . . . .	120
A.3 Les sondes fluorescentes ions-dépendantes . . . . .	121
A.4 Les électrodes invasives et le patch-clamp . . . . .	122
A.4.1 Les électrodes invasives . . . . .	122
A.4.2 Le patch-clamp . . . . .	122
A.4.3 La sonde vibrante spécifique à un ion . . . . .	123
A.4.4 Mesure d'un flux ionique . . . . .	123
A.4.5 Mesure de flux ionique membranaire . . . . .	123
A.4.6 Mesure spatio-temporelle d'un flux ionique . . . . .	124
<b>B Modèle de Fano</b>	<b>125</b>
<b>C Généralités sur les transitions de phase</b>	<b>129</b>
<b>D La percolation</b>	<b>131</b>



# Remerciements

Il y a quelque chose de gênant voire de pornographique à coucher sur le papier ce qui est en fait très personnel. Je ne puis alors livrer ici que des remarques générales. Ce n'est que par tradition que cette partie est écrite, car seul Dieu est cause de soi, l'homme est né.

Je remercie donc avant tout Guilhem, pour son soutien et notre travail dans les périodes simples comme à travers les étapes troublées.

Je remercie tous les chercheurs du laboratoire pour nos discussions enflammées.

Je remercie notre directeur vénéré, pour sa promotion vétilleuse de la subversion et pour tant d'autres choses.

A ma douce et tendre, qui est maintenant capable de sentir un lombric s'agiter à 100 mètres, et qui est la seule à avoir l'autorité nécessaire pour me forcer à me reposer.

A ma soeur qui a osé passer son agreg quelques semaines avant ma soutenance et qui a tant réjouit Mathias et Didier.

A mes parents et ma grand-mère de poule!!

A mon parrain.

A Martin-Pierre Sauviat.

A Didier, Mathias, Sacha et Thomas qui savent suite à un douze contre un pourquoi je n'en dirais pas plus.

Aux amis qui sont là pour moi.





# Introduction générale

La cellule est l'unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant tout ou une partie d'un être vivant. Chaque cellule est une entité vivante qui, dans le cas d'organismes multicellulaires, fonctionne de manière autonome mais coordonnée avec les autres. Les cellules de même type sont réunies en tissus, eux même réunis en organes [1]. Pour le physicien, la cellule est un ensemble constitué d'un très grand nombre d'éléments (molécules chimiques, ions etc.), extraordinairement complexe, qui échange une multitude d'informations et d'interactions [2; 3].

Les ions ont été très étudiés, particulièrement dans le cadre de l'étude des neurones et du fonctionnement du rein, et pourtant leurs répartitions précises dans la cellule, leur interactions avec les protéines, leurs interactions avec l'ADN (acide désoxyribonucléique), leurs conditions d'échanges entre les différents compartiments cellulaires et entre les cellules même, restent très mal comprises. Les ions peuvent aussi traduire une réaction biologique majeure : ainsi un infarctus chez de nombreux animaux (dont l'homme) verra des signes précurseurs se manifester par de fortes variations du potassium intra et extra cellulaire dans de nombreuses cellules cardiaques [4]. De plus, l'eau, qui est le constituant majoritaire de toute cellule, devrait jouer aussi un rôle biologique important. Même un rôle simple, qui serait la conséquence de purs effets de dilutions, pourrait avoir des effets biologiques conséquents. D'ailleurs il semble que son rôle et son intérêt en tant que traducteur d'activité biologique soient de plus en plus reconnus. L'exemple du développement de l'imagerie de résonance magnétique par diffusion, qui traduit l'activité neuronale en mesurant les changements de diffusion de l'eau, en est un parfait exemple. La source du signal détecté est un grand sujet de discussion. De plus, une théorie très novatrice, développée par le professeur Le Bihan, voit dans l'eau la vraie source du potentiel d'action des neurones (Le potentiel d'action étant la propagation du signal électrique dans le neurone, il est la source de la communication neuronale [5]).

Imager des ions ou mesurer leurs flux est toujours problématique, car les méthodes principales pour y arriver impliquent des procédures invasives. De même imager l'eau est un défi. La méthode la plus souvent employée est la détection des mouvements de la membrane cellulaire. Ceci peut s'avérer impossible sur des axones myélinisés ou dans des échantillons épais, car ces mouvements deviennent indétectables. Ainsi il apparaît nécessaire de pouvoir détecter à la fois les ions et les flux d'eau, de manière non invasive afin de pouvoir mieux étudier leurs effets sur des cellules et sur des organes.

Le rayonnement térahertz se situe dans l'infrarouge lointain. L'eau absorbe fortement le rayonnement infrarouge, cependant les térahertz sont à la limite de cette zone très forte absorption. Ainsi ce rayonnement peut être fortement sensible à l'état de l'eau et donc aussi à la concentration des ions en solution. C'est ainsi que la production du rayonnement térahertz et la construction d'un système d'imagerie furent envisagées pour à la fois suivre l'eau et les ions dans les cellules.

Le système de production de térahertz choisi fut la génération par antennes semiconductrices [6]. Elle est basée sur la frappe de semiconducteurs lithographiés par un laser femtoseconde et sur la détection synchrone du signal émis. C'est l'ensemble des électrons accélérés pendant des temps de l'ordre de la picoseconde qui permet la production du rayonnement. Ce système monté, il fut confirmé que les térahertz étaient très sensibles à la concentration ionique. Il fut alors temps de gérer deux problèmes principaux : le très faible signal d'une part et les longueurs d'onde générées d'autre part (1 THz équivaut à une longueur d'onde de  $300 \mu\text{m}$ ) qui sont peu propices à la biologie. Le premier problème sera levé par la mise en place d'une installation térahertz à très bon rapport signal sur bruit. Le second par l'introduction de l'imagerie en champ proche avec ouverture.

Dans le premier chapitre de cette thèse, le système de génération du rayonnement térahertz construit sera décrit et expliqué. Les principales caractéristiques de celui-ci seront détaillées, ainsi que les principaux systèmes pour le manipuler. La polarimétrie et les débuts d'études sur le dichroïsme circulaire seront aussi montrés. De plus, une méthode d'étude qui sera grandement utilisée dans la suite de cette thèse, la programmation en éléments finis, sera présentée. Enfin la transmission électromagnétique à travers un trou de taille inférieur à la longueur d'onde sera détaillée. Ce calcul servira pour les chapitres deux et trois. Cette première partie est ainsi à la fois une présentation du système expérimental, mais aussi un aperçu des bases de l'optique térahertz.

Dans le second chapitre de ce mémoire, l'imagerie des ions et de l'eau sera le thème central. Il y sera détaillé la sensibilité du rayonnement térahertz aux concentrations ioniques. Ensuite la procédure tant théorique que pratique d'utilisation du champ proche dans les conditions qu'impose le rayonnement térahertz sera détaillée. Il y sera donc introduit le concept et la méthode d'imagerie par contraste de champ proche. Elle sera ensuite appliquée à l'imagerie d'axones de lombric, ce système biologique offrant la possibilité d'avoir des axones de diamètre important. Différents stimuli montreront à la fois la possibilité de suivre les flux d'eau et d'ions, mais aussi l'impressionnante et surprenante quantité d'eau échangée. Ceci devra être pris en considération pour mieux comprendre le rôle de l'eau dans le fonctionnement cellulaire. Enfin cette même technique se montrera capable d'imager en temps réel des flux ioniques dans du muscle cardiaque de grenouille. Cette technique couplant le rayonnement térahertz, le contraste de champ proche et les ions comme agent de contraste dans les tissus biologiques sera nommée l'imagerie de contraste ionique térahertz.

L'imagerie est une des méthodes que la physique propose à la biologie. La spectroscopie en est une autre. Elle permet d'étudier la structure et les propriétés des molécules biologiques. Par exemple l'étude de la structure des protéines mobilise de nombreux domaines spectraux et de nombreuses méthodes d'analyses. Les térahertz apparaissent là encore comme un outil puissant. Car ce domaine spectral correspond exactement aux domaines d'énergies des modes normaux de macromolécules. Les modes normaux d'une molécule sont des vibrations à grandes échelles de celle-ci. Ils sont sensibles à la structure de celle-ci mais aussi à son environnement. Afin que la spectroscopie térahertz des molécules biologiques offre un fort intérêt, il fallait que cette spectroscopie soit possible sur de molécules solubilisées. Car le travail sur molécules cristallisées aurait à la fois souffert du très grand nombre d'autres techniques apportant déjà une grande quantité de résultats (par exemple les rayons X), et de la modification de leurs fonctions qu'impose l'état cristallin. La forte interaction du rayonnement térahertz avec l'eau fut un blocage immédiat, car les spectres ne pouvaient principalement traduire que la modification de l'état de l'eau par la molécule biologique mise en solution. Il fallut donc considérer l'utilisation de couches minces de molécules solubilisées.

Pour obtenir des résultats significatifs, il fut immédiatement pensé à l'utilisation de plasmons polaritons, c'est à dire d'ondes cohérentes d'électrons couplées à des photons. Une démonstration de principe, confirmant cette intuition, sera donné par l'utilisation de ces plasmons polaritons sur la bactériorhodopsine. Le système de production des plasmons polaritons

fut des plaques métalliques percées de trous de taille inférieure à la longueur d'onde. Ce système fut étudié par Thomas Ebessen et publié dans le désormais fameux article de *Nature* [7]. La présence de molécules biologiques à la surface de ces plaques va modifier la propagation et les interactions entre le métal et l'onde. Ainsi des modifications d'états de ces molécules pourraient être détectées. Mais afin de ne pas se contenter de constater des différences de signaux avec et sans molécules biologiques, il fut décidé d'étudier de manière beaucoup plus précise ce système de génération de plasmons polaritons. Cette étude correspondra, tout du moins temporellement, au grossissement de la polémique sur les phénomènes physiques se passant à la surface de ces plaques à trous.

Le dernier chapitre de cette étude sera ainsi entièrement consacré à l'étude du rayonnement électromagnétique en interaction avec ces plaques percées de trous de taille inférieure à la longueur d'onde. Le rayonnement térahertz est ici un atout immense, car il offre la possibilité de s'éloigner de la résonance plasma, qui est la conséquence de la structure et de la nature du métal. Ces résonances se trouvent dans le visible ou dans le proche infrarouge. Il offre de plus le moyen de construire des plaques avec une grande précision structurale. Cette dernière partie sera divisée en deux modélisations principales. La première sera basée sur le modèle de Fano pour décrire la transmission de ces plaques. Ce même modèle servira aussi à décrire les interactions entre plasmons polaritons sur de plaques aux structures plus complexes. Les résultats de ces dernières plaques sèmeront tout de même le trouble, et induiront une volonté de caractérisation minutieuse de la transmission de ces plaques dans des géométries simples. Le second modèle sera la conséquence de ces expériences. Il verra introduire la notion de transition de phase et aboutira à la percolation comme modèle unificateur des différentes géométries testées. Enfin la démonstration de la possibilité d'émettre plus d'énergies sur des plaques présentant un léger désordre structurel verra un modèle de résonance stochastique capable de le décrire. Ce modèle apparaîtra comme très cohérent avec le second modèle introduit auparavant. La fin de cette étude invitera à choisir les plasmons polaritons comme phénomène physique principal à la surface de ces plaques.

# Chapitre 1

## Optique térahertz

Dans ce chapitre, le système expérimental construit au cours de cette thèse va être décrit. Son côté modulaire sera un atout très utile. La méthode pour émettre ce rayonnement est l'accélération de charge dans un semiconducteur. C'est l'émission dite par antennes. La manipulation du rayonnement térahertz est rendue problématique par l'ensemble des longueurs d'ondes impliquées. Elles s'étendent, sur le système expérimental utilisé, de  $100\ \mu\text{m}$  à  $3\ \text{mm}$ . Ainsi les effets de diffraction peuvent être très importants. Un ensemble d'éléments du système expérimental vont être détaillés afin de décrire au mieux les principales caractéristiques de l'utilisation du rayonnement térahertz. Les premières applications seront la polarimétrie ainsi que le dichroïsme circulaire. De plus, la programmation en éléments finis, qui sera utilisée dans le second chapitre pour la construction du concept de contraste de champ proche et pour le traitement d'expériences d'imagerie, et dans le troisième chapitre pour la simulation des plasmons polaritons, sera détaillée. Il sera porté une grande attention à la validité des simulations, et aux techniques employées pour simuler les différentes propagations de rayonnement considérées. Finalement, le calcul de la transmission du rayonnement par un trou de taille inférieure à la longueur d'onde sera longuement détaillé. Comme la simulation en éléments finis, il servira dans le second et dans le troisième chapitre.

## 1.1 Le système expérimental

### 1.1.1 Ordres de grandeur

Le rayonnement térahertz (THz) se situe dans l'infrarouge lointain.  $1 \text{ THz} = 10^{12} \text{ Hz} = 300 \mu\text{m} = 6.62 \times 10^{-22} \text{ J} = 5.56 \text{ meV} = 0.22 \text{ k}_B\text{T}$ . L'énergie caractéristique d'un photon térahertz correspond donc à l'énergie typique des modes propres (modes vibrationnels de grande échelle) de macromolécules. Cette énergie se situe aussi aux mêmes ordres de grandeurs que l'énergie de phonons dans des solides cristallins et dans certains métamatériaux métalliques. Un faisceau térahertz de large bande spectrale s'étendra typiquement de 0.1 THz à plusieurs térahertz (voire plusieurs dizaines suivant la technique). Ainsi des objets de quelques centimètres provoqueront des effets de diffraction non négligeables. Enfin la densité de flux de puissance du corps noir [8] à température ambiante (293 K) est de l'ordre de  $860 \text{ Wm}^{-3}$ , C'est une puissance très faible, peu propice à une détection simple.

### 1.1.2 Présentation du système expérimental

Il existe deux techniques principales pour générer du rayonnement térahertz : la génération utilisant un cristal non linéaire [9] et celle utilisant des antennes photoconductrices [6]. En réalité il en existe historiquement une troisième : la détection par bolomètre. Elle est la plus ancienne car basée sur la détection de rayonnement térahertz issu du corps noir. Cette technique tend à être remplacée par les deux autres. Dans toutes les expériences qui furent menées seule la technologie des antennes semiconductrices fut utilisée. Ce choix fut motivé par la stabilité du signal térahertz ainsi obtenu et par sa grande précision spectrale. Les premières générations fiables par cette méthode eurent lieu en 1984 dans l'équipe de D.H. Auston [10] et en 1989 par D. Grischkowsky [6]. Après de très nombreuses publications, il y a désormais consensus vers certains systèmes types d'antennes, c'est-à-dire vers un certain nombre de matériaux acceptables pour les fabriquer et vers des géométries à employer (La géométrie pouvant jouer un rôle important sur l'intensité du signal, sur la largeur et sur la forme spectrale de l'onde émise).

Le système expérimental décrit ici est proche de celui utilisé par D. Grischkowsky et son équipe. La présentation se décomposera en une description générale du système et de son fonctionnement, puis un approfondissement de certaines parties de celui-ci, et enfin une dis-

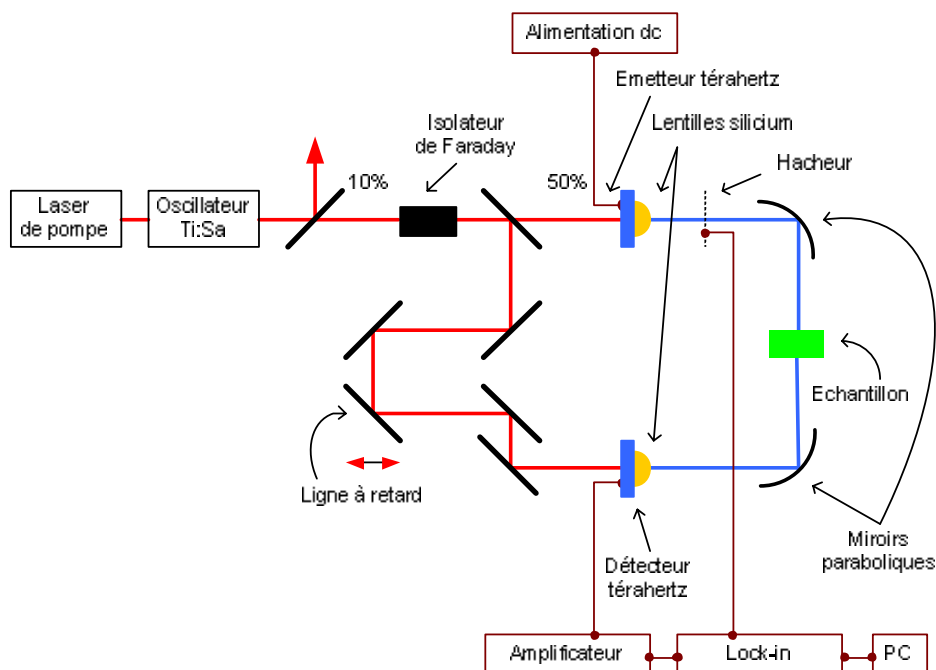


FIG. 1.1 – Représentation schématisée du système expérimental avec ses principaux composants. Le faisceau laser est représenté par les lignes rouges, et les trait bleus représentent le chemin pris par le rayonnement térahertz.

cussion sur le bruit dans ce système. Une représentation de la méthode de génération est donnée sur la figure 1.1. Un laser continu de pompe (laser argon) vient alimenter un amplificateur titane saphir. A la sortie de celui-ci est placé un isolateur de Faraday. Ceci permet de bloquer des ondes de retour qui pourraient fortement perturber l'oscillateur titane saphir. Par la suite, le signal est séparé, par une lame séparatrice, en deux chemins. 60 % du signal prend le chemin qui va frapper l'antenne émettrice. Un dispositif construit par les mécaniciens du laboratoire (Jean-Marc Sintès et Marcel Bierry) positionne l'antenne semi-conductrice et focalise le laser sur celle-ci. Ce dispositif a l'avantage d'être réglable tant pour le faisceau laser que pour l'antenne selon trois axes. Ce même dispositif permet aussi de régler, selon deux axes, une lentille en silicium qui permet de coupler l'onde créée vers l'extérieur. Le principe d'émission du rayonnement térahertz est issu des principes de base de l'électromagnétisme : des charges accélérées émettent un champ électromagnétique. Les antennes semiconductrices sont le siège d'électrons confinés dans la bande de valence. Ces électrons sont extraits de cette bande de valence pour être placés dans la bande de conduction par l'interaction du laser avec



l'antenne. Une tension constante est appliquée sur des lignes métalliques gravées sur le semi-conducteur, ceci permet de générer un champ électrique dans le semiconducteur. Ce champ électrique accélère les charges qui ont été libérées dans la bande de conduction. La structure du semiconducteur est faite de sorte à avoir un grand nombre d'anomalies cristallines qui entraînent une recapture rapide des électrons. Le temps caractéristique de capture des électrons est inférieur à la picoseconde. Des charges accélérées pendant un temps de l'ordre de la picoseconde émettent un rayonnement dans les térahertz. Le rayonnement est ensuite couplé vers l'extérieur par une lentille en silicium. Enfin, un ensemble de 2 miroirs paraboliques focalise et récupère le signal pour l'envoyer vers l'antenne réceptrice. Un système similaire au premier permet le réglage de cette seconde antenne, également frappée par le laser. Toutefois, une ligne à retard motorisée permet un réglage de la différence de temps entre la frappe de l'antenne émettrice par le premier faisceau et la frappe de l'antenne réceptrice par le second faisceau. L'arrivée de l'onde térahertz sur l'antenne réceptrice accélère les électrons de la bande de conduction qui ont été produits par la seconde impulsion laser synchronisée. Ce faible courant, proportionnel au champ électrique térahertz, est ensuite amplifié puis mesuré par une détection synchrone. Ainsi, au cours d'une expérience, l'échantillon est placé entre les deux miroirs paraboliques, et la ligne à retard se déplace de façon à pouvoir échantillonner en temps le champ électrique. A la fin de la mesure, le résultat est l'évolution temporelle du champ électrique, et une simple transformée de Fourier donne accès tant à l'amplitude qu'à la phase du champ térahertz.

### **Le laser**

Ce système de génération térahertz utilise un laser à blocage de modes titane saphir produisant une longueur d'onde d'approximativement 790 nm. Ce système fournit des impulsions de 100 fs avec un taux de répétition de 80 MHz. Il est le plus adapté à la génération térahertz avec les antennes décrites dans ce qui suit, et de plus il évite une dégradation rapide des antennes réceptrices. Il a de plus une grande stabilité, tant du point de vue des variations entre impulsions que du point de vue de la stabilité énergétique globale.

### **Les antennes**

Elles sont le centre de la génération du rayonnement térahertz. Ces antennes furent choisies car elles se sont montrées les plus efficaces pour la génération d'ondes électromagnétiques. Voici

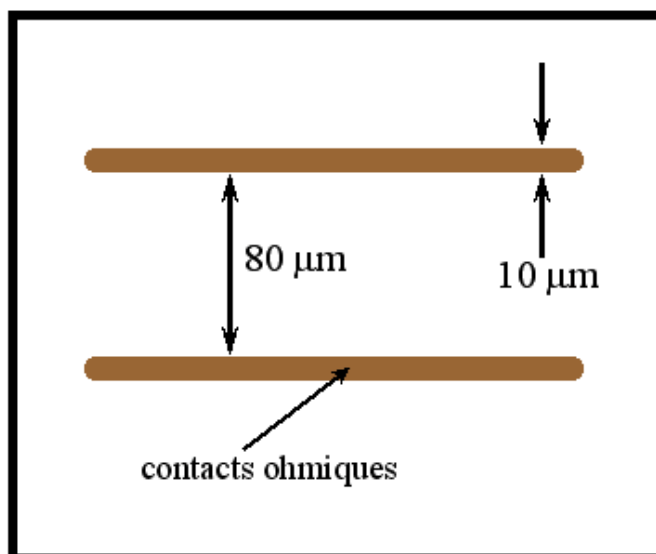


FIG. 1.2 – Représentation de l'antenne émettrice. Le fond blanc représente le semiconducteur et les lignes ocres sont les lignes métalliques.

une représentation de l'antenne émettrice utilisée (figure 1.2). Ces antennes sont constituées de lignes parallèles métalliques faites d'un alliage hautement conducteur d'or et de nickel, d'une largeur de  $10\ \mu\text{m}$ , déposées par lithographie sur un semiconducteur (de l'arséniure de gallium basse température). Le terme basse température décrit une des étapes de la fabrication qui permet de créer un grand nombre d'anomalies cristallines dans la structure du cristal. Ces défauts sont la conséquence d'une stoechiométrie de As et de Ga légèrement différente de 1. Ceci offre un grand nombre de sites de piégeages pour les futurs électrons générés dans la bande de conduction. De plus, le procédé de fabrication donne à ce semiconducteur une grande résistance (plus de  $100\ \Omega\text{cm}$ ). Son seuil théorique de dommage se situe autour de  $10\ \text{mW}$  mais il peut supporter sans dommage plus de  $30\ \text{mW}$  ; il est dépolarisant à partir de  $40\ \text{V}$  et fonctionne au mieux vers  $70\ \text{V}$  pour un espace de lignes de  $80\ \mu\text{m}$ . Toutefois les antennes issues de ce semiconducteur sont mécaniquement fragiles, ce qui représente un désavantage et un problème durant l'étape de mise au contact de la lentille en silicium. Enfin, le procédé de fabrication a pour conséquence qu'aucune antenne n'est identique, et ce n'est donc qu'en la testant que son fonctionnement peut être évalué.

La figure 1.3 montre l'aspect schématique d'une des antennes réceptrices utilisées. Elle est constituée, de la même manière que l'antenne émettrice, de deux lignes parallèles du même alliage, avec un renflement central de telle sorte que l'espace entre les deux lignes ne

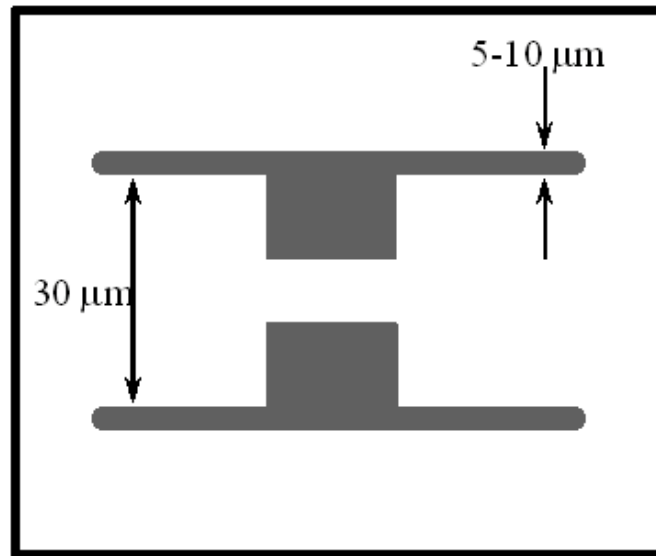


FIG. 1.3 – Représentation de l’antenne réceptrice. Le fond blanc représente le semiconducteur et les lignes grises sont les lignes métalliques.

soit plus que de  $5 \mu\text{m}$ . Le semiconducteur est ici constitué d’une couche de silicium d’un micromètre d’épaisseur sur du saphir. Ce semiconducteur permet de générer plus d’électrons que l’arséniure de gallium pour une puissance équivalente du laser, ceci permet donc une meilleure détection du signal térahertz. Le renflement entraîne naturellement une sensibilité à la polarisation du champ térahertz. La zone optimale de fonctionnement est de l’ordre de 20 - 30 mW. Ces antennes sont mécaniquement beaucoup plus solides et leur fabrication est mieux maîtrisée. Cependant, leur durée de vie, si elles sont utilisées de façon intensive, est d’environ un an.

### Principe de génération par les antennes

Les antennes sont la source de génération des cycles térahertz. Toutes les 12,5 ns (période de répétition du laser) une impulsion de 100 fs et de longueur d’onde 790 nm vient frapper une zone proche de l’électrode positive. Lorsque le semiconducteur est frappé, il y a un passage des électrons de la bande de valence à la bande de conduction. Le temps d’interaction est court. Cependant le champ électrique du laser provoque l’écartement des charges positives et des charges négatives dans le semiconducteur. Cet écartement a lieu dans des directions opposées. La tension existant entre les deux lignes métalliques crée un champ statique qui accélère immédiatement les électrons suivant une direction, et les trous, de charge positive,

dans la direction opposée. Les électrons sont ensuite capturés rapidement par la structure du semiconducteur, sa fabrication étant faite pour avoir un maximum de pièges accessibles. Pendant une période de temps inférieure au temps de capture des électrons, il y a un déplacement différentiel de charges positives et négatives, c'est-à-dire la création d'un dipôle variable. Ce type de rayonnement peut être modélisé comme un rayonnement d'antenne dipolaire [11–15], le champ électrique émis est alors

$$\vec{E}_{rayonne} = \frac{\mu_0 \mu_r \sin(\theta)}{4\pi r} \frac{d^2 p}{dt^2} \left(t - \frac{r}{c}\right) \vec{e}_\theta, \quad (1.1)$$

où  $\mu_0$  et  $\mu_r$  sont respectivement la permittivité du vide et du matériau,  $\theta$  est l'angle avec l'axe du dipôle, où cet axe sert d'axe principal aux coordonnées sphériques,  $r$  est la distance avec la source,  $p$  est la valeur du moment dipolaire, qui est fonction de  $t - \frac{r}{c}$  et  $\vec{e}_\theta$  est le vecteur unitaire de déclinaison dans les coordonnées sphériques. A chaque fois que le laser frappe l'antenne, il y a donc un rayonnement de type dipolaire ; le phénomène prend typiquement 1 ps ce qui correspond donc en fréquence à 1 THz. De plus, il est clair que le dipôle créé est de dimension très inférieure à toutes les dimensions des objets proches. L'onde est d'un point de vue théorique non polarisée, mais c'est une source dipolaire qui sera vue de loin, elle apparaîtra donc polarisée selon  $\vec{e}_\theta$ . Enfin de plus amples détails sur les questions de polarisation seront donnés par la suite. En conclusion, ce système fournit donc en principe un mono cycle polarisé.

### Principe de détection par les antennes

La détection se fait aussi par des antennes. L'antenne réceptrice est principalement différente de l'antenne émettrice par le motif gravé sur sa surface. Le laser frappe aussi le semiconducteur, et a le même effet que précédemment : il transfère les électrons de leur bande de valence pour les mettre dans la bande de conduction. Cependant, les lignes métalliques ne sont pas mises sous tension. Si rien d'autre n'arrive sur l'antenne, les électrons sont rapidement recapturés, mais si l'onde térahertz arrive, alors le champ électrique (térahertz) déplace les électrons qui passent ensuite dans les lignes métalliques, et le courant généré est détecté. La forme des lignes métalliques implique la détection seulement d'une polarisation linéaire de l'onde. La mesure du champ ne s'effectuant que pendant le temps où les électrons sont "libres", ce sera donc la précision maximale en temps accessible. Il est de plus notable que le système mesure directement le champ électrique térahertz.

Il est possible de donner une modélisation simple du détecteur. Sur la figure 1.4 sont

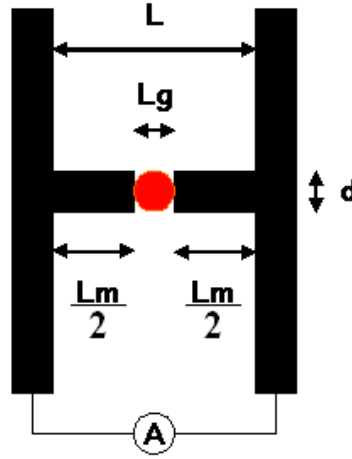


FIG. 1.4 – Schéma de l'antenne réceptrice muni des notations utilisées dans le calcul donnant l'intensité du courant détecté en fonction du rayonnement térahertz.

données les notations utilisées. La zone complète servant à la détection est de longueur  $L = L_m + L_g$ . Le champ électrique qui arrive sur le détecteur peut être modélisé par la superposition d'ondes gaussiennes [11–15]. Soit une de celles-ci :

$$E(x, y) = E_0 \exp\left(-\frac{x^2 + y^2}{w_1}\right). \quad (1.2)$$

La zone du détecteur peut-être considérée comme une série de deux résistances, l'une étant formée des deux électrodes de métal de résistivité  $\rho_m$ , l'autre de résistivité  $\rho_g$ , étant formée de l'espace entre les ligne métalliques. La résistance totale [16] est donc :

$$R = \frac{\rho_m L_m + \rho_g L_g}{td} \approx \frac{\rho_g L_g}{ad}, \quad (1.3)$$

car  $\rho_g \gg \rho_m$  avec  $a$  l'épaisseur de la couche de semiconducteur concernée par la détection. De plus :

$$\rho_g = \frac{L_g d}{\xi P_{laser}} \quad (1.4)$$

où  $\xi$  est un facteur de conversion entre la puissance du laser et le nombre de porteurs de

charges générés. Notons  $\bar{E}$  le champ moyen sur le détecteur ; sa valeur est [11]

$$\bar{E}(L, d) = \int_{-\frac{L}{2}}^{\frac{L}{2}} \int_{-\frac{d}{2}}^{\frac{d}{2}} E(x, y) dx dy = \frac{E_0 \pi \omega_1^2}{Ld} \operatorname{erf} \left( \frac{L}{2\omega_1} \right) \operatorname{erf} \left( \frac{d}{2\omega_1} \right), \quad (1.5)$$

où  $E_0$  est définie par :

$$E_0 = \frac{2}{\omega_1} \sqrt{\frac{P_{THz}}{\pi \epsilon_0 c}}. \quad (1.6)$$

Ainsi la tension est donnée par

$$U = \bar{E}(L_m + L_g) \quad (1.7)$$

et le courant moyen est [16]

$$I = \frac{U}{R} = \frac{\bar{E}(L_m + L_g)}{L_g^2} \xi_{ad} P_{laser}. \quad (1.8)$$

Avec ceci, la forme de l'intensité mesurée s'écrit en fonction de la fréquence  $\nu$  :

$$I(\nu) = \xi P_{laser} \sqrt{\frac{c P_{THz}}{\pi \epsilon_0}} \frac{2 R_L t}{L_g^2 d \omega_0 (n-1) \nu} \operatorname{erf} \left[ \frac{L(n-1) \pi \omega_0 \nu}{2c R_L} \right] \operatorname{erf} \left[ \frac{d(n-1) \pi \omega_0 \nu}{2c R_L} \right]. \quad (1.9)$$

Ce petit modèle décrit bien le processus de réception et de mesure du signal.

## Principe de la spectroscopie dans le domaine temporel

Le principe de la spectroscopie térahertz est assez inhabituel. La détection par les antennes donne, pour un retard fixé, le champ électrique émis par l'antenne émettrice au temps correspondant à la distance parcourue par le rayonnement pour atteindre l'antenne réceptrice. Ainsi en changeant le retard entre les deux faisceaux lasers (celui frappant l'émettrice et celui frappant la réceptrice) l'évolution temporelle du champ électrique térahertz est accessible (figure 1.5). La mesure est en régime linéaire, ainsi le champ électrique mesuré est  $E'(t) = \int_{-\infty}^t R(t') E(t-t') dt'$ , avec  $R$  le Kernel qui contient tant la fonction de transfert de l'antenne émettrice que les propriétés diélectriques de l'échantillon placé entre les deux antennes. Cette évolution temporelle contient toute l'information sur le spectre. En prenant la transformée de Fourier du signal temporel (figure 1.5), le spectre en amplitude et en phase du champ électromagnétique est évaluable. Ainsi  $\tilde{E}(\omega) = R(\omega) E(\omega)$ . Cet accès à la phase est direct, car tout au long de la mesure c'est le champ électrique et non l'intensité électrique qui a été mesuré. Lors de l'expérimentation cette transformée de Fourier est calculée par transformée de Fourier rapide (discrète). Ainsi le spectre maximal mesurable sera donné par l'inverse

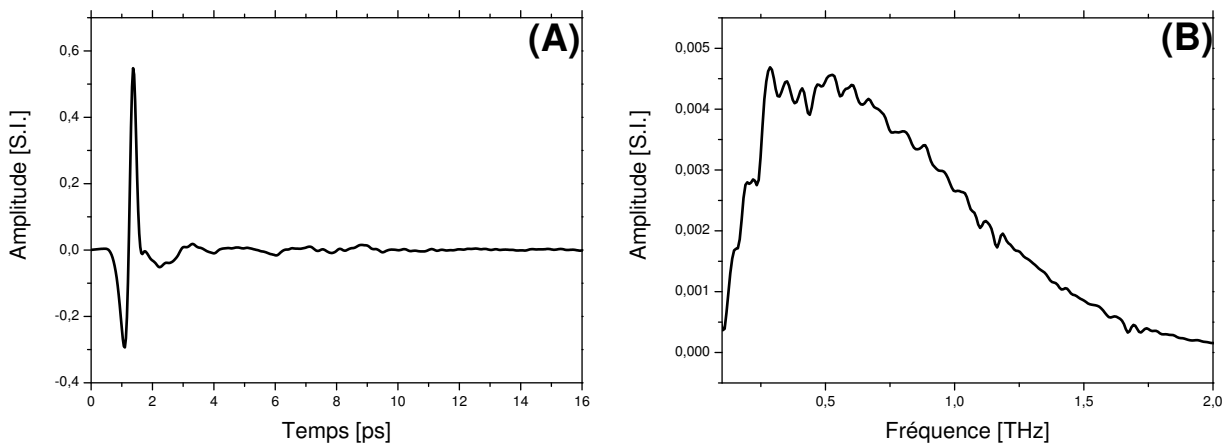


FIG. 1.5 – Courbes présentant l'évolution temporelle du champ électrique térahertz (**A**) et le spectre correspondant (**B**).

de l'écart temporel entre les points de la courbe donnant le champ électrique en fonction du temps. La précision spectrale sera donnée par l'inverse du temps total de la mesure du champ électrique.

## Le bruit

Comme dans toute expérience, le bruit est un élément important, sinon primordial pour juger de la validité d'une mesure et de sa capacité à être décrite et modélisée. Il y a différentes sources de bruit, et il reste peu clair lesquelles affectent l'expérience et avec quel ordre de grandeur. La conception du système, par l'intermédiaire de la détection synchrone, permet de ne détecter que les bruits modulés à la fréquence d'acquisition de celui-ci. Ainsi sont éliminés tous les bruits thermiques qui rendraient la détection du signal impossible compte tenu de l'énergie des photons térahertz. Les sources de bruit sont de trois catégories : celles liées à l'électronique, celles liées aux antennes et aux chemins optiques, et enfin celles liées au laser. Les bruits électroniques sont essentiellement dus à l'amplification du signal et au bruit de quantification du signal. L'amplificateur est réglé de sorte à obtenir un maximum de signal, une bande passante la plus large possible et un bruit réduit. Le bruit de quantification dépend de la qualité de la détection synchrone et n'est pas directement ajustable. Les bruits relatifs aux antennes sont liés à la présence d'électrons non capturés ou ayant des comportements moins déterministes que prévu, provoquant un rayonnement non désiré. Il apparaît difficile

d'évaluer l'influence de ce bruit. L'influence du chemin optique vient de l'ensemble des variations thermodynamiques de l'air que va rencontrer le faisceau ; de même ici, l'influence est difficile à évaluer. Enfin, il reste l'influence due au laser, et il semble que cela soit la principale source de bruit. Ce bruit est de deux natures, car il est clair que les variations à court et à long terme de l'intensité du laser influencent toutes deux le signal. Certaines méthodes furent trouvées pour minimiser les effets du bruit. Lors de l'acquisition du spectre, les échantillons sont passés alternativement avec une référence de sorte d'éviter les effets de dérive à long terme du laser. Les acquisitions sont faites de manière rapide, avec un temps caractéristique de la détection synchrone de l'ordre de quelques dizaines de millisecondes. Pour une acquisition effectuée à un retard temporel donné le temps d'intégration de la détection synchrone permet de réduire le bruit. L'alternance avec une référence est mue par le temps caractéristique de variation du laser.

Il est à noter qu'un effet agit sur l'acquisition des spectres de manière bien plus problématique que les bruits de long temps caractéristiques. Car l'accumulation des données permet de réduire ce type de bruit selon des lois en  $1/\sqrt{N}$ , où  $N$  est le nombre d'échantillons pris. C'est la réduction type de bruits blancs ou de bruits gaussiens. Cependant la variation de position du laser sur des temps inférieurs à la durée de l'acquisition d'une courbe, a pour effet de changer l'intensité du signal. S'il faut modéliser de manière très simple ce genre de bruit, un bruit du télégraphe serait approprié ("shot noise"). Le bruit du télégraphe, qui pourrait être choisi ici, serait symétrique en amplitude, c'est à dire d'amplitude  $A$  et  $-A$ . La caractéristique principale du bruit du télégraphe est que le passage de  $A$  à  $-A$  et inversement se fait selon un processus de Poisson. Deux effets sont alors immédiats. Le moyennage de courbes pourrait effacer l'effet de l'amplitude du bruit mais pas celle du processus de Poisson. La transformée de Fourier d'un bruit du télégraphe est une Lorentzienne. Il y a alors un effet différent de ce bruit pour chaque fréquence. Le moyennage, pour pouvoir effacer ce bruit, doit moyennner le processus de Poisson. La méthode la plus sûre est alors d'utiliser des temps d'acquisitions très courts afin d'éviter la variation de position du laser. Il faut ainsi que la courbe de l'échantillon et la courbe de référence soient prises avant que le laser ne bouge. En pratique, le bruit est plus complexe que celui décrit ici, car le déplacement du laser est continu, et car l'émission de l'antenne émettrice est très dépendante du point de frappe du laser. Il peut rester des composantes de bruit, que même un moyennage minutieux ne pourra éliminer. Il est à noter que ceci est peut-être une des raisons d'une certaine diversité des résultats vus dans la littérature.



## 1.2 Éléments d'optiques et de méthodologie

### 1.2.1 La polarimétrie térahertz

La question se posait, et elle se pose toujours, de la polarisation du rayonnement émis par les antennes. Dans la littérature des résultats quelques peu différents apparaissent, oscillant entre un rayonnement purement linéairement polarisé, dû à la détection d'un rayonnement dipolaire à grande distance, et un rayonnement majoritairement dipolaire avec une composante quadrupolaire non négligeable [17–19]. Les mesures faites dans ces différents articles utilisaient le fait que la détection térahertz par antenne est naturellement polarisante.

Effectivement, seul le courant dans une direction est mesuré, ainsi l'antenne réceptrice était tournée pour étudier la polarisation. Le choix, pour cette étude, s'est porté vers des polariseurs, afin de conserver une grande liberté sur le système. L'expérience consiste alors à mettre deux polariseurs successifs sur le chemin que suit l'onde térahertz. Un de ces polariseurs est monté sur un dispositif l'autorisant à tourner. Ainsi la mesure est sûre et il peut être vérifié que la polarisation obtenue correspond bien à celle escomptée. Un principe simple fut appliqué afin d'obtenir des polariseurs performants. Des lignes de métal furent alignées sur un substrat neutre, et afin d'éviter des effets indésirables de non planéités ou de Fabry-Pérot [11], le substrat fut mis entre deux plaques de téflon d'un centimètre d'épaisseur. Ceci donna de très bons polariseurs. L'émission de l'antenne est montrée sur la figure 1.6. Il y a une émission dipolaire à plus de 99.5%, ce qui est cohérent avec les mesures de Grichkowsky [19]. De plus des polariseurs très efficaces ont aussi pu être fabriqués au cours de nos études des plasmons polaritons, en se contentant de mettre des lignes métalliques parallèles avec une certaine période et une épaisseur de ligne suffisamment faible pour ne pas avoir de plasmons polaritons (tout ceci sera plus longuement discuté dans le chapitre 3). Ces polariseurs ont en plus la particularité de ne pas être posés sur un substrat. Cela produit des polariseurs très efficaces, qui déforment assez peu le spectre. La conséquence principale de ces mesures fut la possibilité de tester une lame quart d'onde achromatique. Le principe de fonctionnement de celle-ci est de transformer une onde polarisée linéairement en une onde polarisée circulairement dans le sens horaire ou antihoraire. Le fait qu'elle soit achromatique lui permet de réaliser cette transformation sur une bonne partie du spectre térahertz. Ceci a exigé quelques développements technologiques, car la conception habituelle des lames quart d'onde est basée sur un matériau biréfringent dont l'épaisseur et l'orientation sont adaptées pour obtenir à

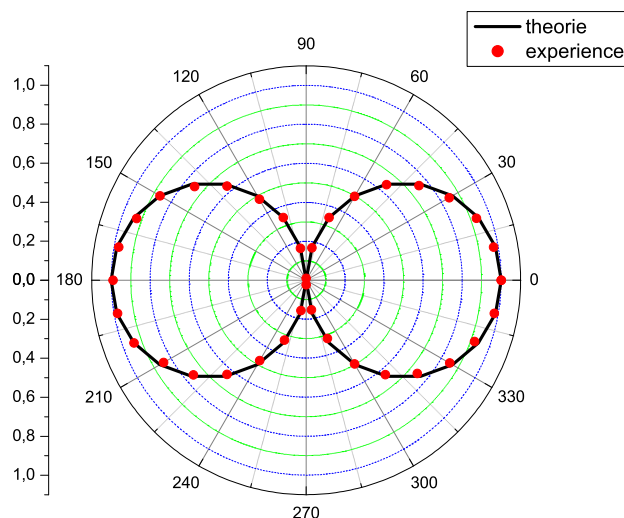


FIG. 1.6 – Moyenne des rapports des transmissions des spectres térahertz émis en fonction de l'angle du polariseur

partir de la polarisation linéaire une polarisation circulaire. Or ici il faut que cet effet ait lieu sur toute une gamme de fréquences.

### 1.2.2 Le dichroïsme circulaire

Ce projet s'est basé sur deux idées. La première fut d'essayer d'étudier la chiralité sur de grandes échelles grâce au rayonnement térahertz, la seconde, bien plus intéressante, fut d'essayer d'observer des effets de dichroïsme circulaire sur des objets de taille comparable à la longueur d'onde qui les éclaire. Ainsi, un des objectifs était de voir ce dichroïsme sur de petits ressorts de longueur d'enroulement typiquement  $300 \mu\text{m}$ .

La première partie du travail fut donc de fabriquer une lame quart d'onde achromatique [20], afin de ne pas avoir à ajuster la largeur de la lame à chaque longueur d'enroulement du ressort. C'est en reprenant l'idée de Destriau et Prouteau [21], que cette lame quart d'onde a pu être conçue. Leur méthode consistait à superposer une lame quart d'onde classique à une lame demi-onde, élargissant ainsi la zone de déphasage utile. Le principe général est qu'il y a annulation partielle des changements de retard de chaque lame à certaines fréquences. Ce principe fut inspirée de la représentation sur la surface de Poincaré [11]. Ce principe fut étendu et un programme optimisa le nombre de lame, l'angle de leurs axes optiques et leurs

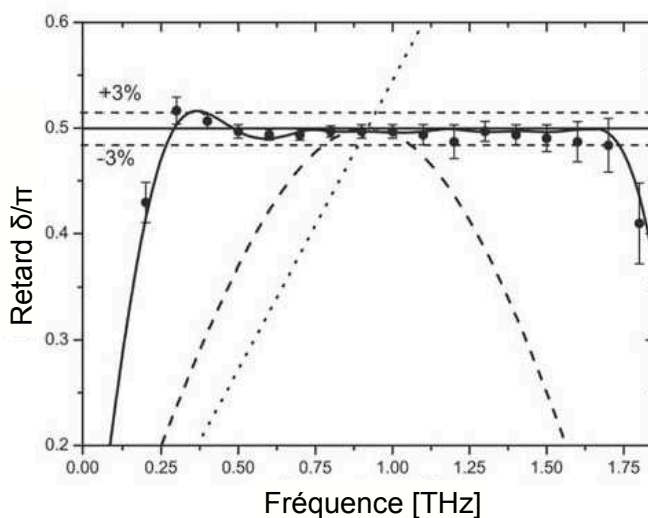


FIG. 1.7 – Représentation de l'évolution du retard donné par la lame en fonction de la fréquence.

épaisseurs. Le résultat obtenu est donné sur la figure 1.7. La bande passante à 3% s'étend de 0.25 THz à 1.75 THz, et l'acceptance angulaire avec le même critère est de  $1.5^\circ$ . Cette lame quart d'onde a cependant un défaut. Pour chaque angle de polarisation, la forme du spectre transmis à travers cette lame est différente. Cela ne pose pas de problèmes pour les mesures, car chaque acquisition se fait de manière couplée à une référence. Cependant, cela change pour chaque polarisation les fréquences un peu mieux transmises et un peu moins bien transmises. Ainsi des objets géométriques "non simples" pourraient présenter des effets de diffractions nuisibles.

### Les tentatives d'applications

Quelques remarques peuvent déjà être faites. Les premières implications formelles sont immédiates : le dichroïsme classique (une molécule éclairée par une longueur d'onde bien supérieure à sa taille) implique une certaine non localité de l'interaction entre le rayonnement et l'objet et donc un développement de cette interaction au-delà du simple développement dipolaire. Ainsi typiquement dans les liquides, l'Hamiltonien d'interaction,  $H$ , vaut [22]

$$H = P.E + M.B. \quad (1.10)$$

Le terme quadripolaire électrique est supprimé à cause de son moyennage dans le liquide. Cependant si l'objet est de taille comparable à la longueur d'onde aucun ordre de développement de l'interaction ne sera suffisant. Il faudrait alors faire le calcul exact de l'interaction !

La modélisation peut être centrée sur un exemple qui sera étudié expérimentalement : le ressort. C'est une forme chirale très simple. Lors de différentes modélisations d'effets de dichroïsme circulaire, l'image de la spirale est souvent utilisée pour décrire le mouvement des électrons.

Quelques réflexions peuvent déjà être données. L'absence de moyennage due aux nombres utilisés donnera une grande influence, sur un éventuel signal détecté, à la direction des ressorts. Typiquement deux cas limites seront intéressants : celui où l'axe du ressort concordera avec l'axe de propagation de l'onde térahertz, et celui où il sera perpendiculaire à l'axe de propagation. Des résonances sont attendues dans le spectre aux différents multiples de la fréquence pas du ressort. Le nombre de résonance étant égal aux nombres de tours du ressort. Une disparition du dichroïsme est aussi attendue aux grandes fréquences pour des ressorts de grands pas, car dans ce cas limite la longueur d'onde est plus courte que l'objet chirale et ne peut donc ainsi voir sa chiralité. Il doit de plus y avoir une grande influence de la dimension perpendiculaire du ressort, mais elle est beaucoup moins facilement évaluable. Cependant son effet se fera sentir dans les deux cas limites précédemment cités.

Une première approche théorique envisagée feint d'oublier que c'est un problème de dichroïsme. Elle considère la réponse linéaire de la surface du métal au champ électromagnétique [11], ce qui revient à considérer le ressort comme une source non locale de réponse dipolaire. Il est à noter que du point de vue du dichroïsme circulaire, c'est une approximation dont l'ordre n'est pas évaluable. La formule générale du champ électrique [11–15; 23; 24] est alors

$$\vec{E}_{rayonn}(\omega) = \int_{\text{sur le ressort}} \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \left[ \frac{-\omega^2 \sin(\theta)}{rc^2} \right] [\alpha(\omega) E_{incident}(\omega)] \exp \left[ -i\omega \left( t - \frac{r}{c} \right) \right] \vec{e}_\theta. \quad (1.11)$$

Ce que ce modèle montre est l'effet pur de la géométrie. Sur la figure 1.8, le dichroïsme pour un ressort de 4 tours, de pas 300  $\mu\text{m}$ , de largeur 300  $\mu\text{m}$ , et dont l'axe coïncide avec l'axe de propagation du rayonnement, peut être vu. Le signal détecté est la différence entre la transmission pour l'onde circulaire gauche et la transmission pour l'onde circulaire droite. Le résultat est à la fois peu surprenant et peu réaliste avec des résonances à des multiples de la longueur d'onde du ressort, avec une alternance entre résonances positives et négatives dues aux interférences. Ce résultat n'est pas réaliste car le signal tend à augmenter indéfiniment à

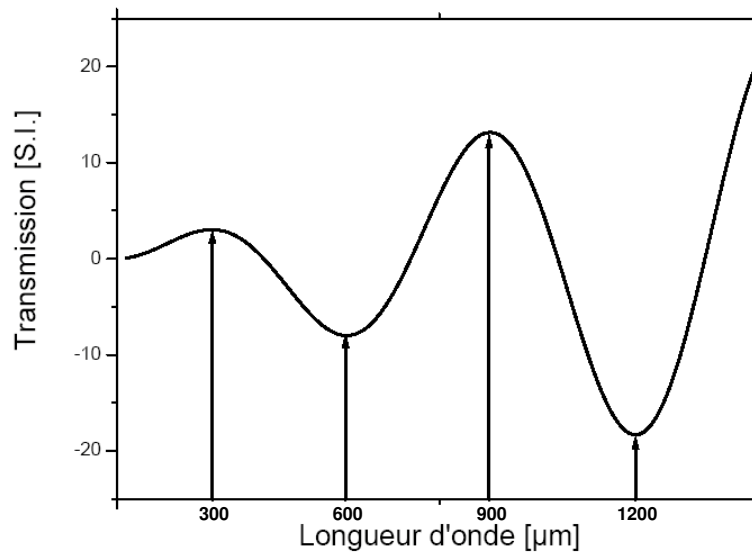


FIG. 1.8 – Évolution théorique du dichroïsme circulaire d'un ressort de 4 tours, de pas  $300 \mu\text{m}$  et de largeur  $300 \mu\text{m}$ , en fonction de la longueur d'onde du rayonnement électromagnétique. L'axe du ressort coïncide avec l'axe de propagation du rayonnement.

mesure que la longueur d'onde augmente. L'évolution du dichroïsme à une longueur d'onde de  $300 \mu\text{m}$  en fonction du diamètre du ressort est exposé sur la figure 1.9. Il y a une augmentation continue du signal avec le diamètre. Ce résultat n'est pas réaliste car au delà d'une certaine taille il ne peut y avoir d'interaction avec la structure chirale. Ainsi ce modèle n'est pas réaliste mais montre tout de même une certaine tendance.

Les autres idées envisagées furent consécutives à des discussions avec François Hache. La première consistait à considérer un électron sur une hélice et à quantifier son comportement. Ensuite l'état des électrons à la surface du métal étaient pris en compte (statistique de Fermi-Dirac [8; 25]). La nature macroscopique du ressort empêche ce traitement car pour avoir des interactions entre le rayonnement et la structure chirale il doit y avoir quantification de l'état énergétique de l'électron.

Une autre approche plus réaliste fut de considérer un potentiel d'interaction non locale sur le métal [26]; et de la même manière d'essayer de calculer le dichroïsme sur la structure. Mais aucun résultat vraiment conséquent n'apparaît avec ce calcul. Certaines quantifications peuvent être forcées, mais là encore le dichroïsme reste indépendant d'effets de structure du ressort qui doivent forcément avoir un effet.

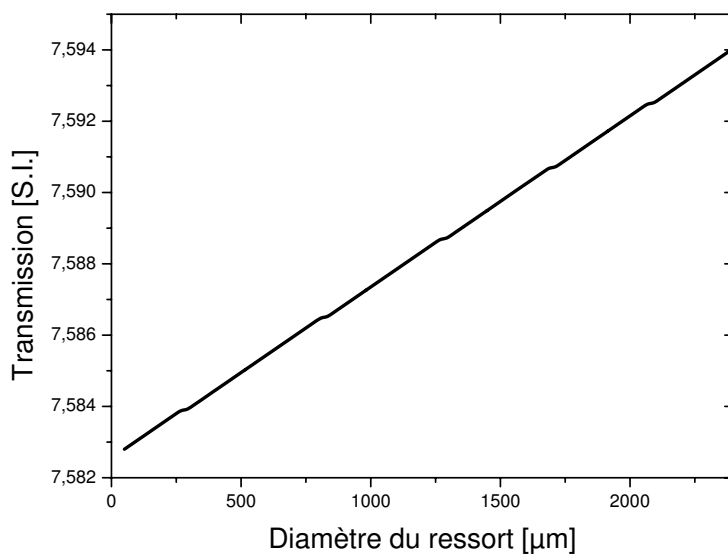


FIG. 1.9 – Evolution du dichroïsme circulaire à  $300 \mu\text{m}$  en fonction de la taille latérale (diamètre) du ressort.

Enfin, il fut essayé de simuler le comportement de ces ressorts par éléments finis (figure 1.10). La seule caractéristique de la simulation fut de prendre des boîtes de calcul suffisamment large afin d'éviter des effets de bord. Ces simulations sont très longues, et convergent avec difficulté. Ceci a quand même donné des résultats plus intéressants. Tout d'abord la simulation a pu confirmer un signal de dichroïsme conséquent. De plus il y a bien une forte dépendance de la taille du ressort et tout particulièrement du diamètre de celui-ci. Enfin ces simulations semblent réalistes car pour de grandes fréquences le dichroïsme semble bien tendre vers 0. La forme complète des courbes est la conséquence de multiples interactions avec le ressort tant de natures chirales que de natures purement diffractives.

Les résultats expérimentaux furent délicats (figure 1.11). Certes des effets très probablement dus aux dichroïsmes furent observés (les deux pics rouges sur la figure 1.11), cependant même des objets non chiraux montraient des différences entre les polarisations droites et gauches. Les raisons sont entre autres l'effet couplé de la diffraction avec les modifications importantes du spectre dû à la lame quart d'onde achromatique, les aberrations créant des effets de type dichroïque là où il n'y en a pas. Des expériences se poursuivent encore sur ce sujet.

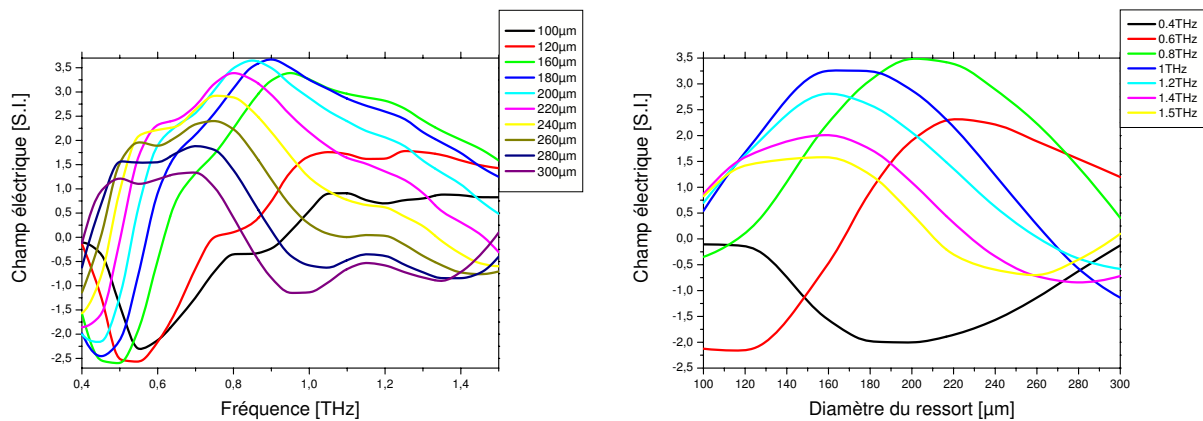


FIG. 1.10 – Evolution spectrale du dichroïsme en fonction du diamètre du ressort et évolution à différentes fréquences du dichroïsme en fonction du diamètre du ressort.

### 1.2.3 La programmation en éléments finis

Parmi certaines des approches faites pour étudier les phénomènes de dichroïsme circulaire sur des objets de taille comparable à la longueur d'onde, de champ proche et de plasmons polaritons de surface, la programmation par éléments finis [27; 28] du champ électromagnétique fut d'une certaine utilité. Le logiciel Femlab fut la première source de programmation par éléments finis. Puis afin de satisfaire des besoins de programmation plus précis, seuls certains éléments du code furent conservés et certains modifiés, et le tout fonctionna sous Matlab. Dans cette partie seuls les éléments principaux de la programmation seront décrits ici.

Le principe de la résolution d'un problème par la méthode des éléments finis est assez simple. L'espace est divisé en petits volumes dans lesquels le problème va être résolu, et propage de proche en proche de sorte qu'il respecte les conditions aux limites. Dans les cas présents, ce sont les équations de Maxwell qu'il faut résoudre. L'espace où se propagent les ondes électromagnétiques est donc divisé en petits volumes. Dans chacun de ces petits volumes, une matrice de transfert tirée des équations de Maxwell transmet le champ électromagnétique d'une face d'un volume à une autre face de ce volume et ceci sur tout le domaine où le champ doit être calculé. Préalablement, un ensemble de conditions aux limites a été défini de sorte que le problème corresponde à un système de  $n$  équations linéaires à  $n$  inconnues. La résolution d'un problème par éléments finis est une grosse inversion de matrice. Pour entrer plus en détail dans la résolution, le principe peut être résumé de la manière suivante [27; 28]

1. Le problème d'électromagnétisme est posé sous la forme des équations de Maxwell, de

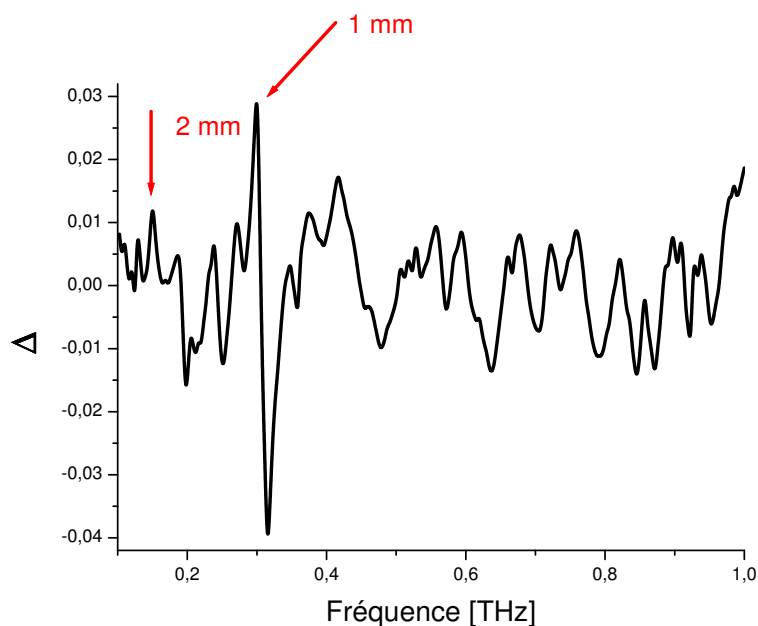


FIG. 1.11 – Évolution spectrale de la différence entre polarisation droite et gauche du spectre transmis à travers un ressort de pas 1 mm.

plus un ensemble de conditions aux limites est défini.

2. Une formulation intégrale du système différentiel à résoudre et de ses conditions aux limites est construite : c'est la formulation variationnelle du problème.
3. Le domaine de résolution est divisé en sous domaines : c'est le maillage.
4. Les noeuds du maillage et les fonctions qui définissent les champs locaux en fonction de la valeur des noeuds sont ensuite choisis.
5. Le problème est discrétisé. La question est alors de savoir comment choisir le problème discret dont la solution est proche de la solution exacte.
6. Le problème discret est résolu, par un algorithme approprié.
7. Les données obtenues sont traitées.

Les étapes de 1 à 5 sont généralement appelées prétraitement.

Après un certain nombre de tentatives, une méthode de résolution qui combine une résolution rapide, précise et une consommation raisonnable de mémoire fut choisie. L'étape de pré résolution du prétraitement est effectuée par l'algorithme "SSOR", qui consiste en une décomposition de matrice en diagonale supérieure et inférieure et un paramétrage de celle-ci



afin de pouvoir avoir en peu d'itérations [27; 28] une évaluation très approximative du résultat. La résolution en tant que telle est faite par la méthode GMRES ("generalized minimal residual"), qui consiste en une résolution des équations linéaires par une orthogonalisation de Gram-Schmidt. Ainsi la résolution complète du programme se fait au premier ordre en temps et en espace. Les simulations furent faites sur un ordinateur muni d'un double processeur 64 bits de 8Gb de mémoire "vive". Les temps de simulation s'étendirent de quelques minutes, pour des propagations simples au maillage constitué de 30000 éléments, à plusieurs jours, pour des simulations de propagation de plasmons polaritons de surface dans des géométries complexes au maillage constitué de plus de 1000000 d'éléments.

### Le champ proche

Un des cas majeurs à traiter fut la résolution de problèmes de champ proche. Le programme type sert à résoudre la propagation d'une onde électromagnétique à travers un objet dont une des dimensions est au moins de taille inférieure à la longueur d'onde. Abordons l'exemple de la propagation d'une onde électromagnétique à travers un trou de taille inférieure à la longueur d'onde. Ce problème a déjà été abordé de manière théorique, et résolu en partie. Le point à retenir est que sur les bords du trou le champ électrique et magnétique diverge. La précision en programmation par éléments finis est à la fois déterminée par la précision prédéfinie de l'algorithme, mais aussi, spatialement, par la résolution du maillage. Donc dans la résolution d'un système présentant un trou de taille inférieure à la longueur d'onde, trois zones sont rencontrées :

- celle de la propagation libre avant le trou,
- celle de la propagation à proximité et dans le trou,
- celle de la propagation après le trou.

Pour la première et la dernière zone un grand nombre de programmes ont montré qu'un maillage de l'ordre de  $\lambda/4$  donne une convergence rapide de l'algorithme et  $\lambda/8$  donne une précision relative en champ de l'ordre de  $10^{-3}$ .

Pour la seconde zone, le maillage doit être déformé spatialement afin d'être le plus précis possible. Cependant, à chaque taille de maillage dans le trou correspondra une valeur maximale de champ. Ceci peut être caractérisé par un exemple : un trou de taille  $50 \mu\text{m}$  éclairé par un champ électromagnétique de longueur d'onde  $300 \mu\text{m}$ . Sur la figure 1.12, l'évolution de l'intensité maximale du champ électrique dans la direction de polarisation en fonction de la

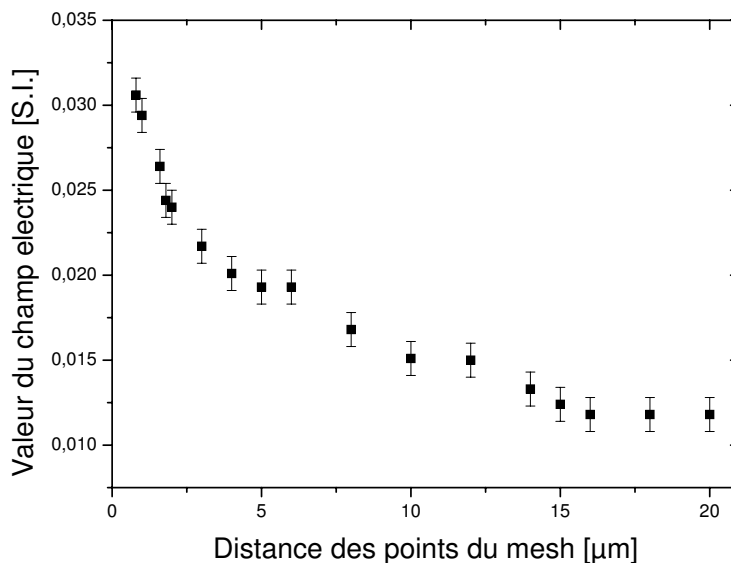


FIG. 1.12 – Evolution du champ électrique en fonction de la distance maximale entre les points du maillage (mesh).

distance maximale dans le trou entre deux noeuds du maillage est présentée. A partir d'une certaine distance il y a une augmentation importante de la valeur du champ avec la précision du maillage. La figure 1.13 donne une représentation du champ électrique à la sortie du trou pour le plus petit maillage. Dans chaque programme la problématique sera de s'assurer que le changement de certains paramètres du système ne modifie pas de manière sensible les distances caractéristiques du maillage dans les zones de champ proche, afin d'éviter des effets purement numériques d'augmentation du champ électromagnétique.

D'un point de vue général, la manipulation du champ proche est toujours problématique quant à savoir quelle précision tant spatiale qu'algorithmique est nécessaire pour traduire la réalité expérimentale.

### Les plasmons polaritons de surface

Les plasmons polaritons furent l'objet d'un très grand nombre de simulations détaillées dans le chapitre 3. Les simulations ont principalement traité le cas des réseaux de trous de taille inférieure à la longueur d'onde. Ainsi un certain nombre de problèmes se sont présentés. Il y eut la question de savoir comment programmer un grand nombre de trous. Il fallut aussi déterminer les conditions d'un maillage adéquat pour ce genre de simulation.

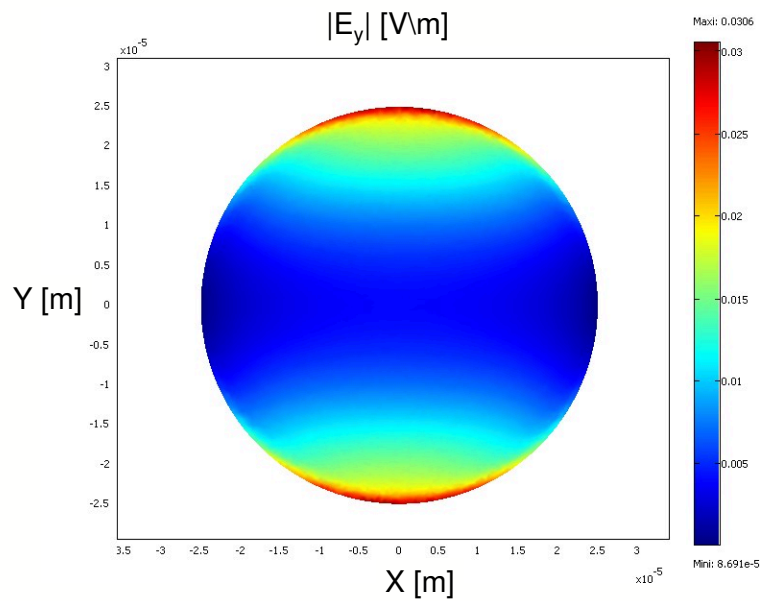


FIG. 1.13 – Champ électrique à la sortie d’un trou de taille inférieure à la longueur d’onde de  $50 \mu\text{m}$  de diamètre. Le champ est projeté dans la direction de polarisation du champ incident. La longueur d’onde du rayonnement incident est de  $500 \mu\text{m}$ . Le maillage fut constitué de 650000 éléments.

### Les symétries

Dans tous les systèmes de plaques présentant à leur surface des schémas qui sont invariants par translation (de pas proportionnel à celui du réseau) et par rotation de  $90^\circ$  (en prenant comme centre celui des trous), la taille de la boîte peut être réduite de manière considérable en utilisant des symétries.

Dans une boîte de calcul où une onde plane se propage, un réseau infini peut être simulé en plaçant un miroir électrique sur les faces perpendiculaires à la direction du champ électrique, ce qui correspond à une condition aux limites :  $\vec{n} \wedge \vec{E} = \vec{0}$ , où  $\vec{n}$  est le vecteur perpendiculaire à la face. De même des miroirs magnétiques seront placés sur les faces de la boîte perpendiculaire à la direction du champ magnétique, ce qui correspond à une condition aux limites :  $\vec{n} \wedge \vec{B} = \vec{0}$  (ou  $\vec{n} \wedge \vec{E} = \vec{H}$  avec  $\vec{H}$  la magnétisation).

Une représentation d’un résultat possible avec les conditions aux limites est donné sur la figure 1.14.

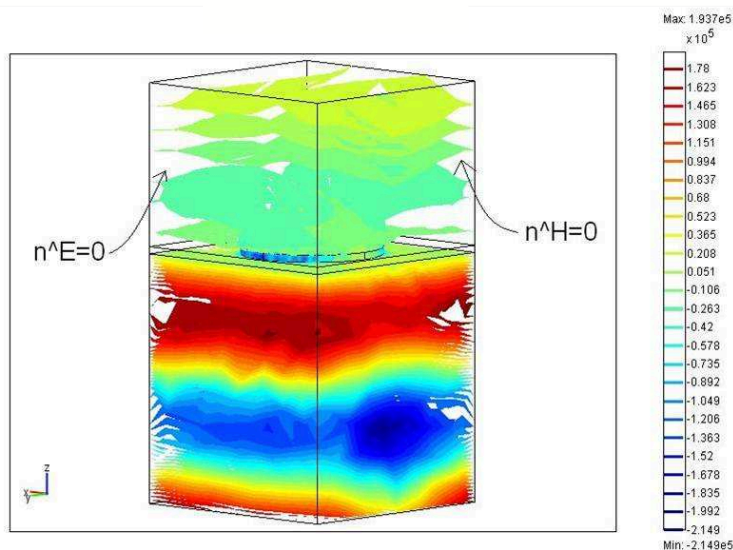


FIG. 1.14 – Exemple de résultat de simulation pour un trou de diamètre  $50 \mu\text{m}$ . La longueur d'onde du rayonnement incident est  $300 \mu\text{m}$ . La représentation est faite en isosurface du champ électrique dans la direction de polarisation du champ incident. Le champ est donné en unité arbitraire.

### Le maillage

La problématique est de savoir quel sera le bon maillage pour ce genre de configuration. Pour un trou de taille inférieure à la longueur d'onde, il fut montré qu'un maillage très fin était nécessaire pour obtenir des résultats acceptables. Mais, de façon très contre-intuitive un maillage très serré n'est pas nécessaire ici. Il doit y avoir un maillage suffisant au niveau du trou afin que le passage du champ à travers celui-ci soit bien modélisé, mais ce maillage reste très inférieur à celui fait pour un trou dans une expérience de champ proche. Une des raisons de cette propriété est que le champ passe principalement à la surface du métal et à proximité des bords du métal.

Le second élément, également contre-intuitif, est qu'il n'y a pas de nécessité de rendre plus précis le maillage près des limites de la boîte afin de rendre compte avec précision de la symétrie. Un maillage simple de propagation d'une onde dans le vide est suffisant. Ceci fut surprenant, car il aurait été légitime de penser qu'une imprécision du maillage sur les bords de la boîte aurait pour conséquence une forte imprécision (propagée par les symétries) sur la périodicité du réseau de trous. La raison de cette non nécessité de forte précision, vient du

fait que la précision du maillage est ajustée à la précision de l'algorithme (GMRES). Ainsi un gain en précision de maillage n'apporte rien de nouveau à la physique du système.

Le troisième élément contre-intuitif est que la taille de la boîte dans la direction de propagation de l'onde est très importante, tant avant la plaque, où se situe le trou, qu'après. La taille de la boîte intervient car il est impossible d'avoir des conditions aux limites parfaites sur les bords de la boîte. Ainsi il y a des ondes réfléchies par les bords de la boîte qui se propagent à l'intérieur de celle-ci. La taille de la boîte est donc motivée, avant la plaque, par le maintien des conditions d'entrées de l'onde dans celle-ci, et après la plaque, par le fait de récupérer tout le rayonnement qui a traverser la plaque.

Dans toutes ces simulations les propriétés du métal ont été reproduites, c'est-à-dire la conductivité, la permittivité et la perméabilité. Cependant ces trois paramètres peuvent être modifiés par des facteurs 100, sans que cela affecte réellement la simulation.

La plupart du temps deux données seront utilisées dans ces simulations, le champ à la surface du métal et l'amplitude du champ réémis par la plaque en fonction de la fréquence de l'onde incidente. Les résultats de champ à la surface ne sont pas quantitatifs, ou tout du moins en l'absence de vérification possible, il ne peut être affirmé qu'ils le sont. Cependant ces champs peuvent être considérés comme étant de bonnes indications de ce qui se passe à la surface du métal.

Les résultats fréquentiels peuvent être quantitatifs mais ils exigent la plupart du temps un réglage fin de la taille de la boîte. Mais typiquement ces simulations furent capables par exemple de montrer l'évolution de la fréquence de résonance en fonction du diamètre des trous. La procédure générale, lorsqu'il s'agissait d'obtenir des résultats quelque peu quantitatifs, était de simuler un état limite de ce système en réajustant tous les autres paramètres libres de sorte à obtenir une valeur calculée théoriquement.

#### **1.2.4 Aspects théoriques de la transmission à travers un trou de taille inférieure à la longueur d'onde**

Le champ proche optique se base sur un principe assez simple [11; 29] : à partir d'un rayonnement de longueur d'onde  $\lambda$ , des détails d'un objet ayant certaines de ses dimensions caractéristiques inférieures à cette longueur d'onde veulent être observés et analysés. Le rayonnement va donc être fractionné dans une zone de taille inférieure à la longueur d'onde et être

recupéré derrière l'objet à analyser. En parlant simplement, le rayonnement, qui va difficilement passer cette zone de contrainte, sort de la zone avec une fréquence spatiale supérieure à ce qu'elle avait en se propageant auparavant. Ainsi les détails spatiaux observables sont maintenant de l'ordre de la taille de la zone de contrainte.

A travers toute cette partie, le système d'unité Gaussienne est utilisé. Le développement théorique de Bethe [33], sur la transmission à travers un trou de taille inférieure à la longueur d'onde, ainsi que quelques corrections [34] apportées sur celle-ci est présenté. Dans un premier temps, il est montré comment des approches "classiques" sont vouées à l'échec. Dans l'approche scalaire le champ  $u$ , soit  $E_y$  par exemple, suit l'équation

$$\Delta u + k^2 u = 0. \quad (1.12)$$

L'écran, de conductivité infinie, est placé en  $z = 0$ , avec  $z$  la direction de propagation de l'onde électromagnétique. Les conditions aux limites sont donc en  $z = 0$

$$u = 0. \quad (1.13)$$

Soit  $u_o$  l'onde qui se propage si l'écran n'est pas là. Elle se propage dans la direction  $z > 0$ . Le théorème de Green [11–15] est appliqué derrière l'ouverture. Pour tout  $r$ ,

$$u(r) = \int d\sigma \left[ -\frac{\partial u_o(r)}{\partial z'} \varphi(|r - r'|) + u_o(r') \frac{\partial \varphi}{\partial z'} \right], \quad (1.14)$$

avec  $r'$  et  $z'$  les coordonnées sur l'ouverture. La fonction de Green est

$$\varphi(r) = \frac{\exp(ikr)}{r}, \quad (1.15)$$

et si la méthode de Kirchhoff [11–15] est appliquée, sur l'écran elle vaut  $\frac{\partial u_o}{\partial z'}$  et dans le trou

$$u_o. \quad (1.16)$$

L'hypothèse est que le trou est de taille très inférieure à la longueur d'onde, donc le champ  $u_o$  peut être considéré comme constant dans le trou. Sachant que  $\varphi$  est symétrique par rapport à  $r$  et  $r'$ ,

$$u(r) = -A \left[ \frac{\partial u_o}{\partial z'} \varphi(r) + u_o \frac{\partial \varphi(r)}{\partial z} \right] \quad (1.17)$$

avec  $A$  la surface du trou. Il y a alors deux choix d'hypothèses :

-Soit la valeur du champ dans le trou est  $u_o$  comme si il n'y avait pas de trou. Alors  $u_o$  et  $\frac{\partial u_o}{\partial z'}$  sont différents de zéros.

-Soit la réflexion de l'onde est prise en compte. Alors l'onde dans le trou est la somme de l'onde plus sa réflexion, donc de valeur nulle. Cependant la valeur de  $\frac{\partial u_o}{\partial z'}$  est doublée.

Avec ces deux hypothèses reprenons l'expression 1.17 sur l'écran. L'expression de la fonction de Green donne :  $\frac{\partial \varphi}{\partial z}$  pour que le second terme de l'expression 1.17 satisfasse les conditions aux limites précédemment citées. Cependant le premier terme de l'expression 1.17 n'est jamais nul, et ce n'est que ce terme qui reste quand la seconde hypothèse est considérée. Donc pour les deux hypothèses, les conditions aux limites du côté de l'onde incidente sont violées.

Il faut insister sur cette démonstration assez simple de la non validité d'une approche scalaire dans les cas d'ouverture de taille très inférieure à la longueur d'onde. Dans de très nombreux cas, des modèles scalaires ont été développés pour décrire les réseaux de trou de taille inférieure à la longueur d'onde, afin de décrire ce processus de génération et de couplage de plasmons polaritons de surface. Il ne s'agit pas là de juger ces méthodes, mais de signaler qu'elles présentent des approximations non négligeables. De plus ces arguments ne peuvent être évacués en invoquant une conductivité finie du métal ou les effets de l'épaisseur de la plaque sur le signal.

Des problèmes similaires sont rencontrés avec les théories vectorielles classiques [11–15]. En utilisant la formule de Stratton [35] pour la partie  $z > 0$ ,

$$\vec{E}(\vec{r}) = \frac{1}{4\pi} \int d\sigma \left[ ik\vec{n} \wedge \vec{H}(\vec{r}')\varphi - (\vec{n} \wedge \vec{E}(\vec{r}')) \wedge \vec{\nabla}\varphi - \vec{n} \cdot \vec{E}(\vec{r}')\vec{\nabla}\varphi \right]. \quad (1.18)$$

Avec  $\vec{n}$  le vecteur unitaire perpendiculaire à la surface de la plaque dans la direction de propagation positive. Cette formule peut être étendue à la surface en  $z' = 0$ . Dans ce cas l'intégrale est étendue à la surface du trou, et  $E = E_o$  et  $H = H_o$ . Si le champ électrique dans le trou est pris en un point, alors le gradient de ce champ est dans le plan du trou et il en est de même pour  $\vec{n} \wedge \vec{H}$  et  $\vec{n} \wedge \vec{E}$ . Donc le premier et le dernier terme de l'expression 1.18 donnent des valeurs tangentes au plan et violent la condition aux limites  $E_{tan} = 0$ , et il en est de même si le champ réfléchi dans le plan  $z < 0$  est pris en compte. Il existe toujours des termes non nuls.

Le même type de non compatibilité que pour le modèle scalaire est ainsi rencontré, là encore des modèles vectoriels tentant de décrire certaines formes de trous de champ proche ou des plasmons de surface ne peuvent entièrement satisfaire les conditions aux limites.

Voici une des rares méthodes pouvant donner des valeurs calculables du champ électromagnétique tiré du travail de Bethe [33] (les corrections de Bouwkamp [34] y ont été ajoutées).

Le système est constitué d'un écran de conductivité infinie placée en  $z = 0$ , et d'un trou, de rayon  $a$ , percé en son centre. Ce trou est très petit devant la longueur d'onde  $\lambda$ . Dans le modèle suivant l'onde réfléchie est prise en compte. S'il n'y a pas de trou pour  $z < 0$ ,

$$\vec{E}_o = [2i \sin(kz), 0, 0], \quad (1.19)$$

$$\vec{H}_o = [0, 2 \cos(kz), 0]. \quad (1.20)$$

Ajouter le trou a pour effet de créer deux champs diffractés  $\vec{E}_1, \vec{H}_1$  et  $\vec{E}_2, \vec{H}_2$  pour respectivement  $z < 0$  et  $z > 0$ . A l'avenir seul les coordonnées utiles sont écrites. Donc pour  $z \leq 0$ ,

$$\vec{E}_g = \vec{E}_o + \vec{E}_1 = [2i \sin(kz) + E_x(-z), E_y(-z), -E_z(-z)], \quad (1.21)$$

$$\vec{H}_g = \vec{H}_o + \vec{H}_1 = [-H_x(-z), 2 \cos(kz) - H_y(-z), H_z(-z)], \quad (1.22)$$

et pour  $z \geq 0$

$$\vec{E}_2 = [E_x, E_y, E_z], \quad (1.23)$$

et

$$\vec{H}_2 = [H_x, H_y, H_z]. \quad (1.24)$$

Les premières conditions aux limites sur l'écran sont :  $E_x = 0$ ,  $E_y = 0$  et  $H_z = 0$ ; et les secondes dans le trou sont :  $H_x = 0$ ,  $H_y = 1$  et  $E_z = 0$ . Le problème dans l'article original de Bethe est qu'il a négligé un gradient dans une de ses formules et ainsi la condition  $E_z = 0$  a été violée.

La procédure qui va permettre de traiter ce problème apparaît comme inhabituelle aujourd'hui car il faut écrire :

$$\vec{E} = \vec{\nabla} \wedge \vec{F}, \quad (1.25)$$

et

$$\vec{H} = -ik\vec{F} - \vec{\nabla}\psi, \quad (1.26)$$

Avec :

$$\vec{F} = - \int \vec{K} \frac{\exp(ikr)}{r} dS, \quad (1.27)$$

et

$$\psi = \int \eta \frac{\exp(ikr)}{r} dS, \quad (1.28)$$



où  $\eta$  est la densité de charge de surface magnétique, et  $\vec{K}$  la densité de courant de surface magnétique. La loi de conservation qui les lie est

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{K} - ik\eta = 0. \quad (1.29)$$

En utilisant un habile parallèle avec un problème d'électrostatique, Bethe [33] a réussi à trouver en approximation au premier ordre (il ne l'avait pas exprimé de la sorte dans son article, c'est une très bonne remarque de Bouwkamp [34]) en  $\eta$  de la valeur de

$$\eta = -\frac{2}{\pi^2} \frac{y}{\sqrt{a^2 - x^2 - y^2}}. \quad (1.30)$$

Le problème (et l'erreur de Bethe) fut alors de trouver des valeurs possibles pour  $\vec{K}$ . En utilisant l'équation de continuité et en s'assurant de conserver tous les termes de l'ordre de  $ka$ ,

$$K_x = -\frac{2ik}{3\pi^2} \frac{xy}{\sqrt{a^2 - x^2 - y^2}}, \quad (1.31)$$

$$K_y = \frac{2ik}{3\pi^2} \frac{2a^2 - x^2 - y^2}{\sqrt{a^2 - x^2 - y^2}}. \quad (1.32)$$

Ces formules respectent toutes les équations de Maxwell, il ne reste plus qu'à calculer le champ. Grâce à des changements de variables et l'utilisation de fonction de Legendre, les expressions analytiques des champs dans le trou sont

$$H_x = 0, \quad (1.33)$$

$$H_y = 1, \quad (1.34)$$

$$H_z = -\frac{4}{\pi} \frac{y}{\sqrt{a^2 - x^2 - y^2}}, \quad (1.35)$$

$$E_x = -\frac{4ik}{3\pi} \frac{2a^2 - x^2 - y^2}{\sqrt{a^2 - x^2 - y^2}}, \quad (1.36)$$

$$E_y = -\frac{4ik}{3\pi} \frac{xy}{\sqrt{a^2 - x^2 - y^2}}, \quad (1.37)$$

$$E_z = 0. \quad (1.38)$$

L'aspect très intéressant de ces formules est la divergence sur les bords du trou de la valeur du champ électrique dans le plan et de la valeur du champ magnétique normal au trou. Les développements peuvent ensuite être poursuivis, cependant les termes dominants au bord

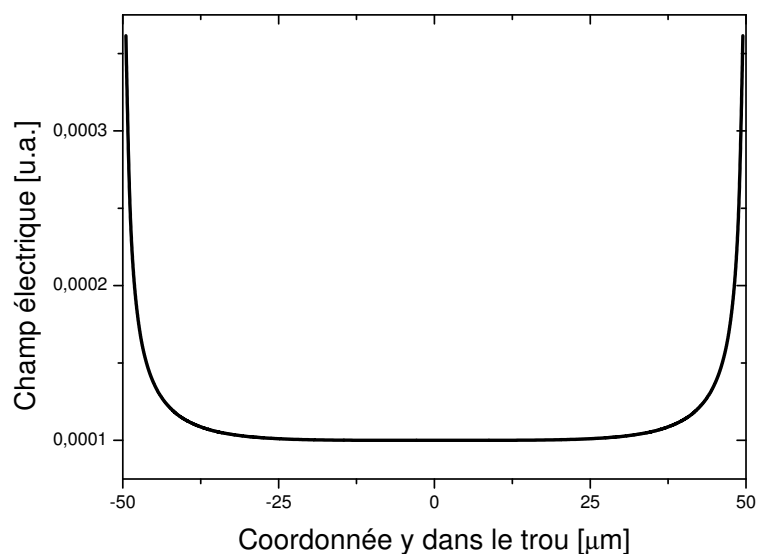


FIG. 1.15 – Champ électrique dans la direction de polarisation de l'onde incidente, en  $x = 0$ , dans un trou de rayon  $50 \mu\text{m}$  pour un rayonnement incident de longueur d'onde  $600 \mu\text{m}$ .

restent ceux donnés ici. Des résultats similaires ont pu être trouvés bien plus tard pour un trou carré en utilisant une méthode similaire, bien que plus liée à des calculs informatiques. La figure 1.15 présente le champ électrique dans la direction de polarisation, sur une ligne passant par le centre du trou de l'onde incidente dans le trou.



# Chapitre 2

## Imagerie de contraste ionique térahertz

### 2.1 Introduction

En biologie l'échange d'ions a lieu dans chaque cellule. C'est à la fois une méthode d'ajustement du potentiel, une méthode pour faire passer de l'énergie électrique, pour ajuster la pression osmotique, et cela peut (peut-être) jouer un rôle non négligeable dans les échanges thermiques des cellules. De plus des organes complets, comme le rein, ont pour but d'échanger de l'eau et des ions. Enfin il ne faut pas oublier la biologie végétale [36]. La pression osmotique entre différentes cellules peut y aller jusqu'à plusieurs centaines de bar. Les végétaux sont aussi capables de provoquer des différentiels de concentrations d'ions sur plusieurs dizaines de centimètres. Des potentiels d'actions ont même pu être observés [37]. Les térahertz offrent une grande possibilité d'applications dans ce domaine. Les interactions avec l'eau sont fortes, et elles vont permettre de traduire les différents états de celle-ci suivant les ions rencontrés. Cependant cette forte interaction se traduit aussi par une forte absorption : 100  $\mu\text{m}$  d'eau absorbe en moyenne la moitié du signal (en transmission). L'épaisseur des échantillons est donc un paramètre critique. De plus, les longueurs d'ondes émises n'autorisent pas une précision spatiale adaptée. En effet, sans système optique spécifique, la précision spatiale d'imagerie ne peut être en dessous de la longueur d'onde du rayonnement utilisé [11].

Des travaux précédents avaient commencé à s'intéresser à l'interface entre le rayonnement térahertz et la biologie. Par exemple, un système d'imagerie de dents a été développé et quelques spectres de tissus biologiques peuvent être trouvés (un bon article de Wallace *et al.* fait un résumé de l'état de l'art sur ce sujet [38]). Il y deux ans quelques présentations et

remarques tendaient en revanche à faire penser qu'il serait impossible de combiner l'optique térahertz et des études biologiques.

Le déroulement de cette étude fut assez linéaire. La découverte de la sensibilité des térahertz aux ions fut confirmée par des études spectroscopiques dans des cuves construites à cet effet. Il fut donc possible d'aborder la problématique des ions et des flux d'eau. Ceci a donc permis de placer cette étude au centre de la polémique sur le rôle de l'eau dans l'activité des neurones. La suite de l'étude fut rythmée par le développement d'outils d'optique pour manipuler les térahertz. Les lentilles hémisphériques taillées dans un bloc de téflon furent un symbole des étapes nécessaires à l'établissement du microscope térahertz. La nécessité de l'imagerie en champ proche fut immédiatement pressentie et fut ainsi implémenté sur le système expérimental. Lorsque les premières données furent recueillies, un développement théorique fut développé pour pouvoir les analyser. Ce sera le contraste de champ proche. Il sera tant une méthode d'expérimentation qu'une méthode d'analyse.

Grâce au couplage de la sensibilité ionique des térahertz à un système optique approprié, il devint possible de suivre les flux d'eau et les flux d'ions dans des cellules. Lors de cette étude il sera confirmée que l'eau joue un rôle important dans la biologie neuronale (une revue très complète, qui vient juste d'être publiée, donne les tenants et les aboutissants de cette problématique [5]). Le système se montrera aussi capable d'imager, de manière résolue en temps, des flux d'ions.

Ce chapitre suivra donc le déroulement temporel de cette étude. Il débutera par la spectroscopie des ions en solution. Une possibilité d'utiliser le rayonnement térahertz pour mesurer la concentration de nombreux ions en solutions sera exposée. Cette méthode sera basée sur la séparation physique de ces ions. Ensuite, le contraste de champ proche sera présenté. Enfin l'imagerie de contraste ionique térahertz, produit combiné de la sensibilité aux ions de ce rayonnement et du contraste de champ proche, permettra d'imager des flux d'ions et d'eau dans des neurones de lombric ainsi que dans du muscle cardiaque de grenouille.

## 2.2 Spectroscopie térahertz des ions en solution

Le spectre térahertz se situe à la limite d'une zone du spectre électromagnétique qui est, à l'exception de quelques fréquences, entièrement bloquée par l'eau. C'est le spectre infrarouge. Donc, le rayonnement qui traversera un échantillon d'eau sera sensible à l'état

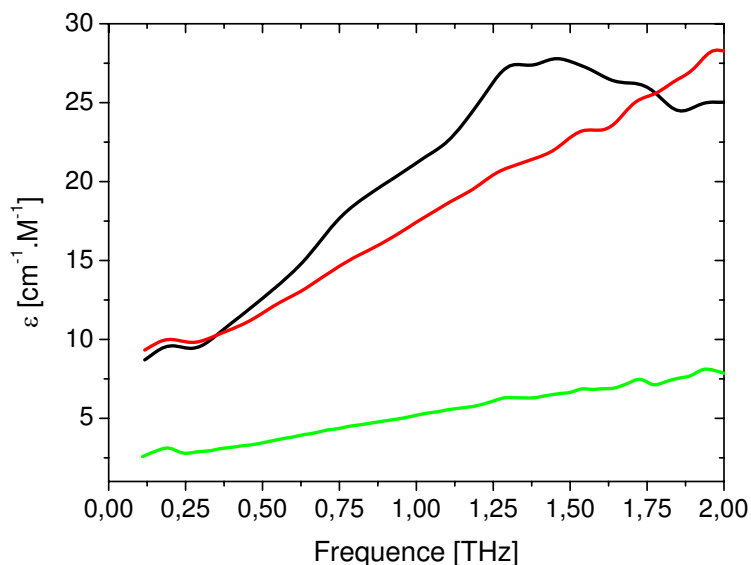


FIG. 2.1 – Spectre d’absorption de trois ions : Na<sup>+</sup> (Vert), K<sup>+</sup> (Rouge) et Ca<sup>2+</sup> (Noir). Le contre-ion est identique pour les trois expériences : Cl<sup>-</sup>.

de cette eau. La mise en solution d’ions modifie la structure de l’eau dans cette solution, ce qui affecte la transmission du rayonnement THz. Cette sensibilité peut être interprétée comme une conséquence de la modification des propriétés diélectriques de l’eau par les ions environnants [40]. Dans le modèle de Debye [41], l’absorption vient de la relaxation diffusive des polarisations induites. Les ions modifient cette diffusion en affectant les cages d’eau autour des ions.

Afin de voir l’effet des ions d’intérêt biologique, des cuves en téflon, conçues pour la spectroscopie, ont été utilisées et les spectres de ces ions ont été très précisément mesurés (figure 2.1).

Les spectres ont un aspect assez compréhensible, ils sont assez plats, ne présentent pas de particularité, cependant une grande différence d’absorption entre le potassium et le sodium peut être notée. Ceci est très intéressant car principalement ce sont ces ions qui sont en concentrations très différentes entre les compartiments extra et intracellulaires.

Il est à noter que la spectroscopie utilisée, et ayant abouti aux spectres précédemment cités, est purement linéaire. Ainsi une solution contenant par exemple quatre ions, présentera un spectre dont les différentes composantes ne pourront être extraites. Le principe proposé pour pouvoir extraire toutes les concentrations des ions en solution, est de les séparer physiquement

les uns des autres.

### 2.2.1 Les cuves à ions

#### Le principe

Il faut séparer les ions afin d'avoir un signal qui ne soit pas qu'une simple transmission térahertz mais qui ait d'autres composantes analysables. La méthode de séparation envisagée est de soumettre les solutions contenant ces ions à des champs électriques statiques ou quasi-statiques. La séparation physique des ions de charges différentes pourra alors être exploitée. La géométrie développée pour ce genre d'expériences est quasi-unidimensionnelle (figure 2.2). Deux plaques métalliques parallèles sont placées autour d'une cuve de polystyrène réticulé. Un différentiel de tension est maintenu. Ainsi selon une des dimensions perpendiculaires à la propagation du faisceau  $z$ , il y a un déplacement d'ions, et c'est en mesurant les valeurs spatiales de transmission térahertz selon  $z$  que l'information peut être récupérée. Deux modes de fonctionnement peuvent être envisagés :

**Le mode statique.** La solution est soumise à un champ électrique défini et constant, l'équilibre thermodynamique [8; 42] est atteint, et l'imagerie est réalisée suivant l'axe  $z$ . Il est clair que dans ce mode seule la charge des ions influencera la répartition spatiale.

**Le mode dynamique.** La solution est soumise à un champ électrique constant à un instant  $t_0$  connu, et le signal térahertz est suivi tant du point de vue spatial que du point de vue temporel. Dans ce mode par contre, il y aura une sensibilité à la charge de l'ion et à sa mobilité (et donc sa taille), puisque son déplacement dans la solution va dépendre d'elle aussi.

#### La théorie

**Le mode statique.** Seule la solution avec un ion et son contre-ion sera traitée ici, l'extension à de multiples ions est dans ce cas immédiate. De plus, deux cas seront distingués, celui où le champ est suffisamment fort pour séparer complètement les ions positifs des ions négatifs, et celui où les ions positifs et négatifs sont toujours présents dans la zone centrale de la cuve.

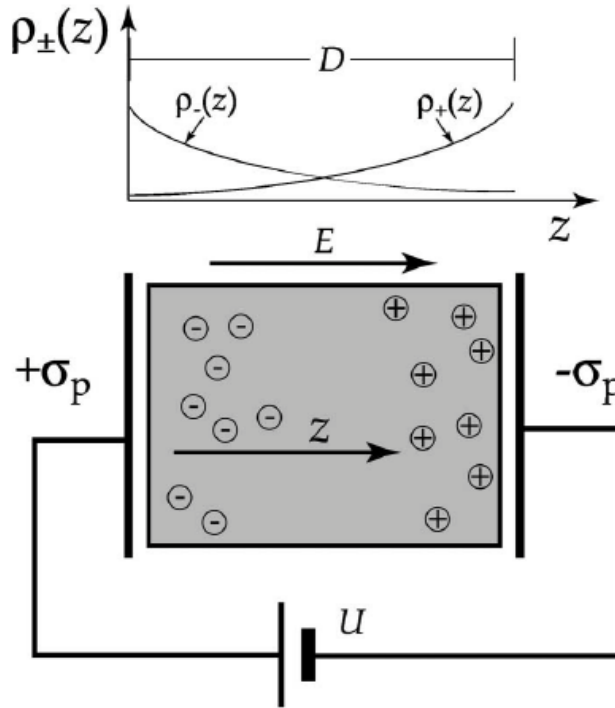


FIG. 2.2 – Représentation de la cuve contenant les ions, ainsi que des densités d’ion en fonction de la position dans la cuve. Cette représentation résume le modèle. La cuve est utilisée ici en mode statique.

Cette séparation est formelle, mais dans le premier cas une solution analytique peut être trouvée.

**En champ fort.** Des ions de charge  $+qe$  et leurs contre-ions de charge  $-qe$ , avec  $q > 0$ , sont plongés dans une solution à température  $T$ , comprise dans une cuve de dimension latérale  $D$  [43] (figure 2.2). Les charges des plaques  $z = 0$  et  $z = D$  sont respectivement  $\sigma_p$  et  $-\sigma_p$  et le module des charges par unité de surface de cations (ou d’anions) est noté  $\sigma$ . La densité de charge positive et négative, suivant  $z$ , est notée respectivement  $\rho_+$  et  $\rho_-$ . Un petit dessin donne le résumé (figure 2.2).

La longueur de Bjerrum vaut  $\lambda_{bj} = e^2/\epsilon k_B T$ , avec  $\epsilon$  la permittivité diélectrique de la solution. Le champ électrique extérieur qui traverse la cuve est  $E = 4\pi\sigma_p/\epsilon$ . Pour des raisons évidentes de symétrie

$$\rho_-(D/2 + z) = -\rho_+(D/2 - z). \quad (2.1)$$



Le système est alors géré par l'équilibre de Boltzmann et par l'équation de Poisson. En réunissant toutes les données, le couple d'équations suivant régit la physique du système

$$\frac{d^2\phi}{dz^2} = -4\pi qe\rho_-(z)/\epsilon, \quad (2.2)$$

$$\rho_-(z) = \frac{\sigma}{D} \exp(-qe\phi(z)/k_B T), \quad (2.3)$$

avec  $\phi$  le potentiel électrique, dépendant de  $z$ , dans la cuve. En écrivant  $u(z) = \frac{1}{\rho_-(z)}$  l'équation résultante est un peu plus simple et la solution est

$$\rho_-(z) = \frac{A\lambda\sigma}{\sinh^2(\sqrt{A}z + \varphi)}. \quad (2.4)$$

Les termes  $A$  et  $\varphi$  sont déterminés par les conditions aux limites :

$$\int_0^D \rho_-(z) dz = \sigma, \quad (2.5)$$

$$\frac{d\phi(z)}{dz} = -E, \quad (2.6)$$

et valent :

$$A = \left(\frac{q}{b} - \frac{1}{\lambda}\right)^2 \quad (2.7)$$

$$\coth(\varphi) = \frac{q}{b\sqrt{A}} \quad (2.8)$$

$$b = \frac{e}{2\pi\lambda_{bj}\sigma} \quad (2.9)$$

$$\lambda = \frac{1}{2\pi q^2 \lambda_B \sigma}. \quad (2.10)$$

Cette solution peut facilement être étendue en changeant les conditions aux limites et en incorporant les charges totales dans l'équation de Boltzmann et dans celle de Poisson. De façon très logique le résultat ne dépend que de la charge des ions. Une mesure précise de la concentration des ions peut alors être faite, grâce à un grand nombre de points pris lors du déplacement spatial du faisceau térahertz.

**En champ faible.** Il peut y avoir des conflits sur l'équation à utiliser, pour des raisons de couches limites, et de certains critères sur les tailles de longueur caractéristiques. Ce genre de problème est évité ici ; l'équation gérant la physique du système est l'équation de Poisson-Boltzmann [8; 42] :

$$\frac{d^2\phi(z)}{dz^2} = \alpha \sinh(\phi(z)); \quad (2.11)$$

avec  $\alpha = q^2 e^2 n_o / \epsilon \epsilon_o$  et  $n_o$  la densité d'ions. Ce type d'équation se résout simplement numériquement en utilisant une méthode dite de "shooting" [23; 24; 44] (une méthode d'essai récursive). Une solution analytique ne peut être trouvée car il y a uniquement des conditions aux limites sur  $\phi(z)$ , ainsi la première constante d'intégration est inconnue. Cependant toutes les solutions sont "proches" de fonctions hyperboliques.

**Le mode dynamique.** Le système passe d'un état d'équirépartition des ions à  $t = t_o^-$ , à un état dynamique de déplacement des ions pour compenser le champ électrique à partir de  $t = t_o^+$ , pour arriver à un état d'équilibre décrit par la partie précédente [45–47]. Il y a trois équations couplées qui permettent de décrire ce système. Les deux premières sont la diffusion forcée des ions

$$\frac{\partial C_{\pm}}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial z} \left( -D_{\pm} \frac{\partial C_{\pm}}{\partial z} \mp \mu_{\pm} q e C_{\pm} \frac{\partial \phi(z)}{\partial z} \right) \quad (2.12)$$

avec  $\mu_{\pm} = \frac{D_{\pm}}{k_B T}$  la mobilité de l'ion, et  $C$  la concentration d'ion en  $z$ . Grâce aux grandes différences de temps caractéristiques de mouvement de l'ion et de l'établissement du champ électrique dans la solution, il est clair que l'équation de Poisson est valable à tout instant,

$$-\epsilon \frac{\partial^2 \phi(z)}{\partial z^2} = q e (C_+ - C_-). \quad (2.13)$$

Avec ceci il faut 9 conditions aux limites, à  $t = 0$ ,  $C_{\pm}(z, 0) = C_o$ ,  $\phi(z, 0) = \frac{(\Delta V)z}{D}$  avec  $\Delta V$  la différence de voltage entre les plaques. Aux deux bords de la cuve, il y a nullité du flux d'ions. Enfin l'équation de Poisson est valable sur les bords de la plaque. En quelque sorte ce système d'équation est plus simple que le mode statique, car par simple différence finie [23; 24; 48] de premier ordre en temps et en espace la solution est immédiate. A tout hasard, une simulation plus rapide des résultats sera effectuée en décomposant les parties spatiales sur des polynômes de Legendre et les parties temporelles sur des polynômes de Hermite. De plus cela évite les problèmes de divergence des solutions.

Deux types de cas peuvent encore être séparés. Si dans l'échantillon testé, il y a par exemple plusieurs espèces d'ions positifs et un seul contre-ion négatif, le mode statique donnera la concentration de l'ion négatif. Alors les deux premières équations pourront être simplifiées en assimilant la mobilité et la diffusivité de l'ion négatif à celle d'un des ions positifs. Ainsi des variables réduites définies, comme la somme et la différence des concentrations d'ions positifs et négatifs, rendront la résolution du problème plus simple. Sinon, le système complet doit être résolu.

Un des inconvénients de la méthode est qu'avec un échantillon inconnu la recherche du nombre d'ions sera difficile. Cependant, cela revient juste à prendre le bon nombre de points expérimentaux, et à avoir stocké suffisamment de cas dans des pré-simulations pour évaluer assez rapidement le nombre d'ions, puis le reste de la simulation est immédiat.

## 2.3 Champ proche et contraste de champ proche

### 2.3.1 Petit modèle et idées

Une description habituelle des processus d'interaction en champ proche utilise la modélisation dipolaire [29]. Ainsi un rayonnement induit un dipôle tant sur une sonde que sur un échantillon, et l'interaction mutuelle des dipôles est la source de changement dans le signal : c'est le champ proche. Appliquons ce type de modèle à une expérience de champ proche avec trou. Le rayonnement induit un dipôle sur la sonde et le trou. Ce rayonnement ne passe pas la sonde, car le trou est de taille inférieure à la longueur d'onde. Le champ rayonné par le dipôle (trou) induit un dipôle sur l'échantillon. Et c'est le rayonnement dû à ce second dipôle induit (l'échantillon) qui va interagir avec le premier dipôle induit (trou). Ainsi c'est seulement au second ordre que l'interaction va affecter la sonde.

L'idée de cette partie est de montrer que sous certaines conditions, l'effet de l'échantillon sur la sonde peut être négligé, tout en conservant en grande partie les propriétés du champ proche. Ce résultat a donné naissance à la notion de contraste de champ proche [30; 31]. Ainsi un des effets pratiques de ces conditions, est que la simulation des expériences peut alors être séparée en deux étapes : la première implique une résolution par éléments finis de la propagation du champ au niveau de la sonde, la seconde implique une simple propagation du champ par des fonctions de Green [11–15; 23; 24].

### 2.3.2 Simulations et résultats

Cette étude [30; 31] sera centrée sur un travail informatique car l'impossibilité de calculer analytiquement les interactions champ proche rend la généralisation de certains concepts trop complexe. Toute "l'expérience" informatique a lieu dans une boîte de simulation, où un trou de taille inférieure à la longueur d'onde ainsi qu'un échantillon sont placés. Seul le cas de l'échantillon sphérique est commenté ici. Un petit schéma représentatif peut être vu sur la

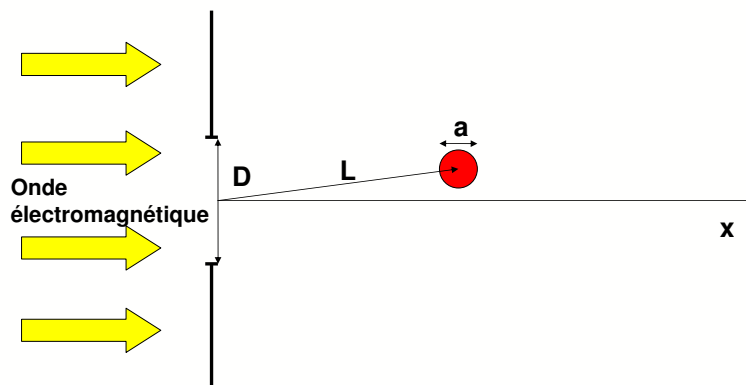


FIG. 2.3 – Représentation simplifiée de la modélisation du champ proche. L'échantillon est représenté par le cercle rouge de diamètre  $a$ . Les quelques notations utilisées sont données sur le dessin.

figure 2.3.

Pour cette étude des précautions de simulations furent ajoutées aux méthodes habituelles. Deux paramètres vont être suivis pour comprendre le contraste de champ proche. Le premier est classique, c'est la différence  $\Delta$  entre le champ calculé par la méthode des éléments finis et le champ calculé par les fonctions de Green au point de mesure. Le second est le gradient maximal  $\nabla_M$  du champ électrique dans le trou. Sur la figure 2.4 est présentée une évolution de ces deux données en fonction de  $L$ , la distance entre le trou et l'échantillon.

Les deux courbes présentent un comportement assez similaire, avec une zone de constance correspondant au champ lointain, une zone d'évolution monotone qui deviendra la zone de contraste de champ proche, et enfin une zone de comportement plus erratique correspondant au vrai champ proche. Dans un premier temps l'évolution de cette distance séparant les deux comportements,  $L_c/D$ , est suivie en fonction de la taille normée de l'échantillon et de la taille de l'ouverture champ proche (figure 2.5). Un comportement linéaire de cette évolution peut être observé, comme l'indique la droite noire. De plus l'extraction de  $L_c$  par les deux paramètres donne le même comportement. Dans un second temps (figure 2.6), l'évolution de  $\nabla_M$  et de  $\Delta$  est suivie en fonction de la distance réduite  $d = \frac{L-L_c}{D}$ , de la taille des échantillons ainsi que de la taille de l'ouverture champ proche. Là encore, un comportement similaire des deux paramètres peut-être observé. De plus, toutes les courbes suivent une évolution identique, décrite par une exponentielle décroissante de facteur  $D/10$  (même valeur pour

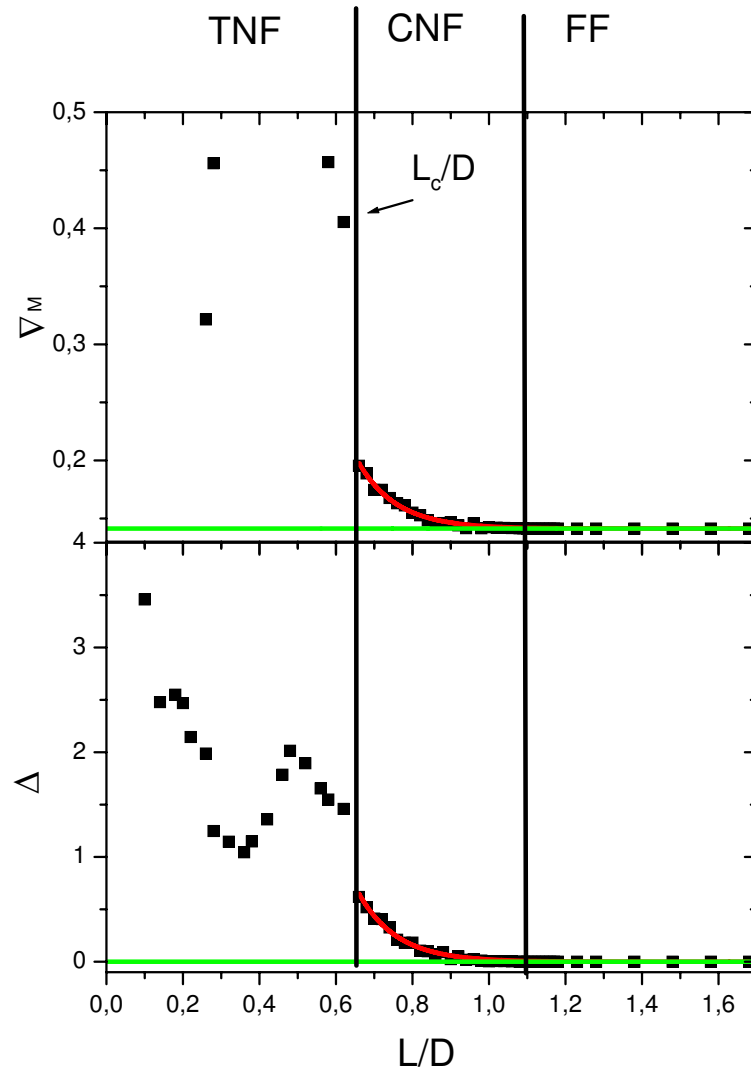


FIG. 2.4 – Évolution de  $\Delta$  et de  $\nabla_M$  en fonction de  $L/D$ . Les termes TNF, CNF et FF présents sur le dessin désignent respectivement la zone de vrai champ proche, la zone de contraste de champ proche et la zone de champ lointain.

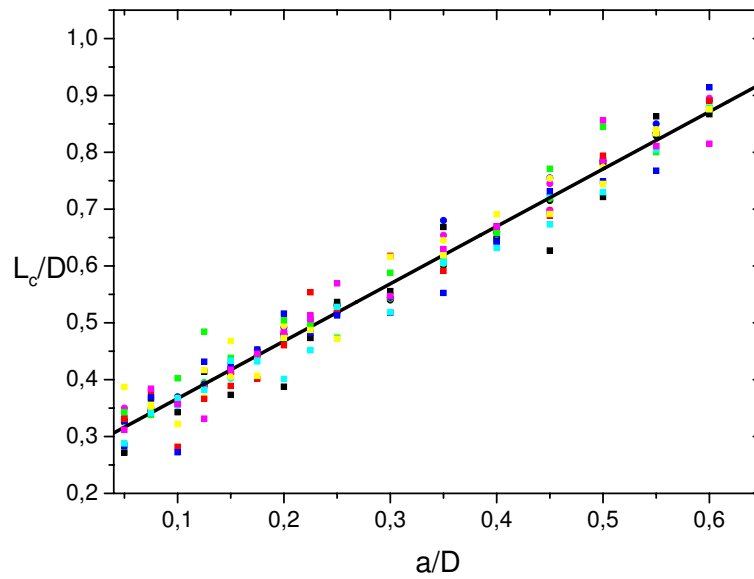


FIG. 2.5 – Evolution de la distance normée  $L_c/D$  en fonction de  $a/D$ . La couleur des points est lié à  $D/\lambda$  avec  $\lambda$  la longueur d’onde du rayonnement : noir pour  $1/3$ , rouge pour  $1/4$ , vert pour  $1/5$ , bleu pour  $1/6$ , cyan pour  $1/7$ , magenta pour  $1/8$ , jaune pour  $1/9$ . La forme des points est relative à la quantité dont  $L_c/D$  est extraite : les ronds pour  $\nabla_M$  et les carrés pour  $\Delta$ .

les deux paramètres). Cette fonction est tracée en noir sur la figure 2.6, et en rouge sur la figure 2.4.

Ainsi le champ proche peut être séparé en deux zones : une première zone, à l’intérieur d’une sphère dont le centre est celui de l’ouverture et de rayon  $L_c$ , correspond au vrai champ proche. Les interactions entre la sonde et l’échantillon y sont multiples et seule une simulation complète, en éléments finis, donnera des résultats valables. Une seconde zone entre la zone de vrai champ proche et la zone de champ lointain correspond au contraste de champ proche. Les effets de champ proche se font toujours sentir, cependant  $\nabla_M$  peut être assimilé à sa valeur limite, pour laquelle il n’y a pas d’échantillon. Ainsi une simulation de l’expérience se fera en deux temps, une simulation en éléments finis de la propagation dans l’ouverture et ensuite une propagation du résultat par de simples fonctions de Green. Ainsi la procédure informatique est bien plus simple et des résultats expérimentaux peuvent être analysés avec un nombre important de paramètres.

Un exemple est donné par deux expériences d’imagerie de neurones [32; 49] (figure 2.7). Le

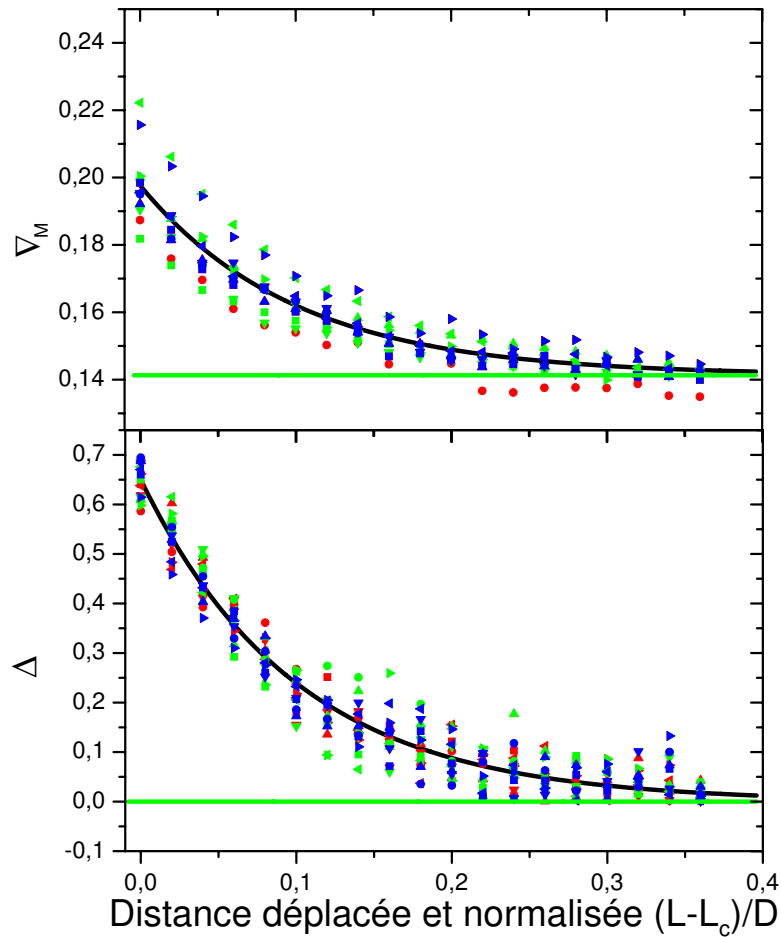


FIG. 2.6 – Evolution de  $\nabla_M$  et de  $\Delta$  avec la distance réduite  $d$ , pour trois tailles d'ouvertures : 1/3 (rouge), 1/6 (verte), 1/10 (bleu). Pour chaque taille d'ouverture, 6 valeurs de  $a/D$  sont exposées : 0.05 (cercle), 0.1 (carré), 0.15 (triangle haut), 0.2 (triangle bas), 0.4 (triangle gauche), 0.5 (triangle droit). La ligne verte est la valeur limite pour le champ lointain.

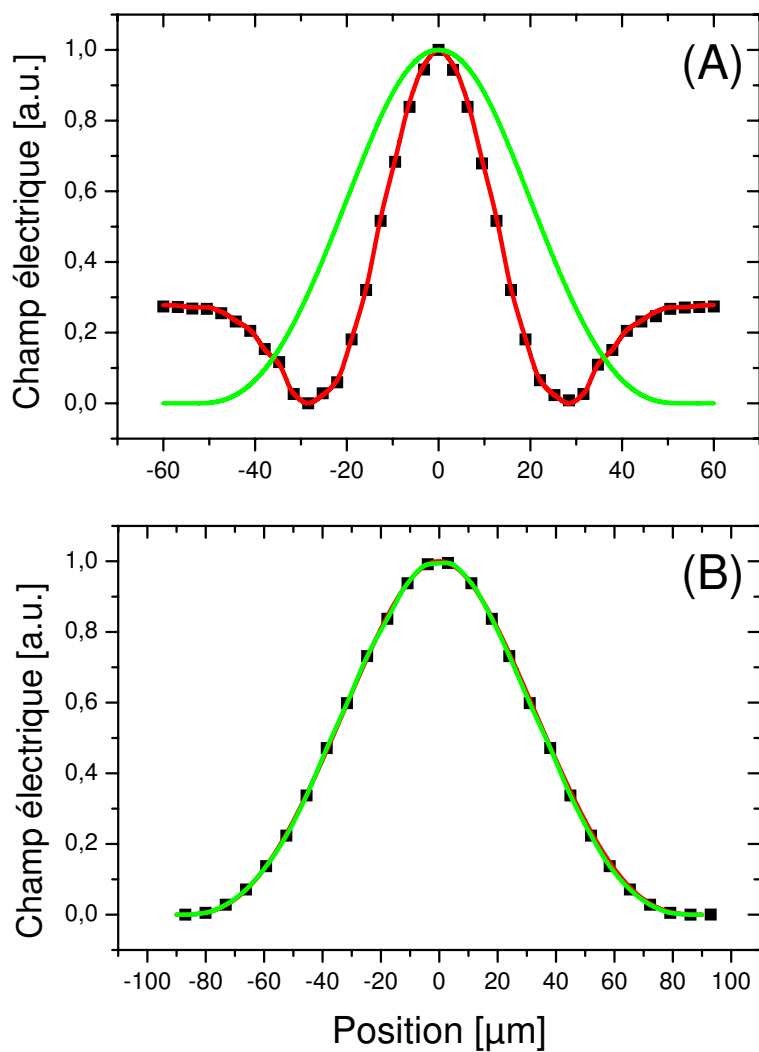


FIG. 2.7 – Évolution du signal térahertz lors d'une expérience d'imagerie de champ proche sur un neurone de ver de terre. Sur la courbe **A** l'expérience a été réalisée en condition de vrai champ proche, et sur la courbe **B** l'expérience a été réalisée en condition de contraste de champ proche. Les courbes rouges donnent les résultats des simulations complètes en éléments finis, et les courbes vertes celles des simulations en contraste de champ proche.



principe en sera expliqué dans la suite du chapitre. Sur la figure 2.7 A, le neurone a été placé en condition de vrai champ proche, et seule la simulation complète (rouge) permet de décrire le résultat. Par contre, la figure 2.7 B, où le neurone est placé en condition de contraste de champ proche, voit les deux simulations, la complète (rouge) et celle en deux étapes (vert) donner le même résultat.

Ce principe peut être étendu à l'imagerie champ proche avec pointe. Des résultats similaires sont trouvés, les principales différences sont une augmentation de la pente dans l'évolution linéaire de  $L_c/D$  et une diminution du facteur de l'exponentielle dans le comportement de  $\nabla_M$  qui vaut maintenant  $D/8$ . Ces deux effets sont la directe conséquence qu'en champ proche avec pointe l'ordre d'interaction entre la sonde et l'échantillon (du point de vue du modèle des dipôles) est supérieur d'un ordre par rapport à celui entre la sonde et l'échantillon pour le champ proche avec trou.

## 2.4 Imagerie d'axones et imagerie des flux d'eau

### 2.4.1 Introduction

Il existe de nombreuses méthodes pour imager les neurones. Il faut séparer les méthodes que l'on pourrait qualifier de médicales, qui sont appliquées quotidiennement, et les méthodes plus liées à la recherche en biologie. Les méthodes médicales, traduisant l'activité des neurones, sont principalement l'imagerie par résonance magnétique nucléaire. Elle permet d'imager le fonctionnement des neurones de manière indirecte en regardant l'activité sanguine supposée être corrélée au fonctionnement de ceux-ci [39]. De récents développements permettent maintenant d'imager en temps réel le fonctionnement des neurones par l'intermédiaire de la diffusion de l'eau [5]. Le principal débat sur ce sujet est la provenance des différents signaux venant de l'eau. Cette dernière technique semble pouvoir trouver sa place tant dans les laboratoires que dans l'hôpital. Les autres techniques utilisées à l'hôpital peuvent aussi servir, mais elles n'imaginent pas le fonctionnement des neurones (IRM d'imagerie non résolue en temps à visée diagnostique, tomographie par rayons X etc.).

Dans les laboratoires, il existe une très grande variété de techniques pour imager les neurones, et ce nombre grandit de manière quasi mensuelle depuis quelques années. Il y a l'optique classique, linéaire, en transmission, qui permet de voir les neurones mais n'est pas directement

sensible à leur fonctionnement [49]. De plus pour les neurones ayant des axones myélinisés, il n'y a souvent pas la possibilité de voir l'axone ou le neurone, en tant que tel, mais juste de voir la couche de myéline. De nombreux marqueurs peuvent permettre de voir certains ions [50–52] (annexe A), mais le signal est souvent de mauvaise qualité, et il n'est pas prouvé que ces marqueurs ne perturbent pas le fonctionnement neuronal normal. Par exemple la présence d'ion calcium est essentiel à la stabilité de la membrane cellulaire [5; 53], mais les molécules capables de marquer ces ions sont de grande extension spatiale [50–52], ce qui provoque donc un éloignement de ces ions de la membrane. Des protéines membranaires peuvent de également être marquées et ainsi certains aspects protéiques du fonctionnement neuronal peuvent être vus. Cependant, là encore, la couche de myéline peut s'avérer poser de nombreux problèmes. Les nanoparticules et autres points quantiques [54] (quantum dots) offrent le même type de possibilités et des problèmes similaires. Il est à noter que de grands succès ont été accomplis grâce à ces points quantiques dans l'observation de migrations protéiques sur des neurones. L'imagerie à deux photons, enfin, a récemment été utilisée pour imager des neurones et des variations sensibles du signal ont pu être associées à son fonctionnement (projet actuellement mené par Laurent Bourdieu à l'Ecole Normale Supérieure [55–57]). Cependant l'utilisation de marqueurs est là encore plus ou moins nécessaire pour améliorer le signal.

Il peut être également utile de rappeler de manière synthétique ce qu'est un neurone [49]. Les neurones sont des cellules excitables qui transmettent et transforment de l'information électrique. Chez les animaux vertébrés ils sont les composants principaux et clefs du cerveau et de la moelle épinière (système nerveux central), et des nerfs (système nerveux périphérique). Ils sont principalement composés d'un corps cellulaire, d'un arbre dendritique et d'axones. Parmi les différents aspects liés aux neurones, l'étude qui sera détaillé va principalement porter sur le transport de l'information dans l'axone. Du point de vue du physicien, l'axone est un tube cylindrique dont la composition en ions internes diffère fortement de la composition externe en ions. La membrane de l'axone est munie de protéines, appelées canaux ioniques, qui ont pour but de faire passer des ions d'un côté à l'autre de la membrane. L'information voyage sur l'axone par l'intermédiaire du potentiel d'action. C'est un déséquilibre entre concentrations ioniques internes et externes qui est propagé le long de cet axone. Il est à noter que le modèle classique de propagation du potentiel d'action sur les neurones est en train d'être partiellement remis en cause. L'eau pourrait s'avérer jouer un rôle majeur dans son établissement et dans sa propagation. De plus, de vieilles expériences impliquant des gels et des différentiels d'ions

capables de propager des signaux électriques similaires à ceux des neurones, en l'absence de trous sur leurs structures, ont jeté le trouble sur le fonctionnement des neurones.

## 2.4.2 La méthodologie

### Le matériel biologique

Le ver de terre (*Lumbricus terrestris*) fut la source principale de neurone pour le développement de l'imagerie de contraste ionique térahertz. Cet animal a la particularité d'avoir un neurone géant en son centre, dont l'axone principal a un diamètre proportionnel à la taille de l'animal ( $30 \mu\text{m}$  à  $150 \mu\text{m}$ ). De plus, cet axone géant est particulièrement résistant, des expériences durant plus de 10 heures l'ayant vu rester entièrement fonctionnel.

La manipulation "expérimentale" classique sur le ver a consisté, dans un premier temps, en une extraction du tube neural de celui-ci, puis en une fixation de l'axone "nettoyé" sur une lame en verre (de faible épaisseur pour éviter une trop grande absorption) par des filets de vaseline dans une solution de liquide physiologique (solution de Ringer). Enfin une seconde lamelle est fixée sur le tout pour éviter l'évaporation du liquide physiologique.

### Le principe d'imagerie

L'imagerie utilise les éléments développés pour le contraste de champ proche [30; 31]. Un petit schéma qui résume le système expérimental se trouve sur la figure 2.8. Le signal térahertz est focalisé avec des lentilles en téflon sur un trou percé dans un écran métallique d'épaisseur  $8 \mu\text{m}$ . Selon les principes expliqués auparavant, le signal réémis par le trou permet d'obtenir une plus grande précision spatiale et la position de l'objet biologique derrière le trou permet de se mettre dans les conditions de contraste de champ proche.

L'imagerie consiste alors à déplacer l'échantillon biologique devant le trou et à acquérir la valeur du champ électrique pour chaque position de l'échantillon. Le choix des ouvertures pour l'imagerie est régi par trois critères : le rapport signal sur bruit, la taille de l'échantillon biologique, et la possibilité d'être dans la zone de contraste de champ proche.

Le traitement des résultats se fait suivant les principes développés dans la partie sur le contraste de champ proche. Le neurone est modélisé comme un tube de section elliptique. L'optimisation se fait alors sur ces paramètres. Le signal [11–15; 35] mesuré a donc pour

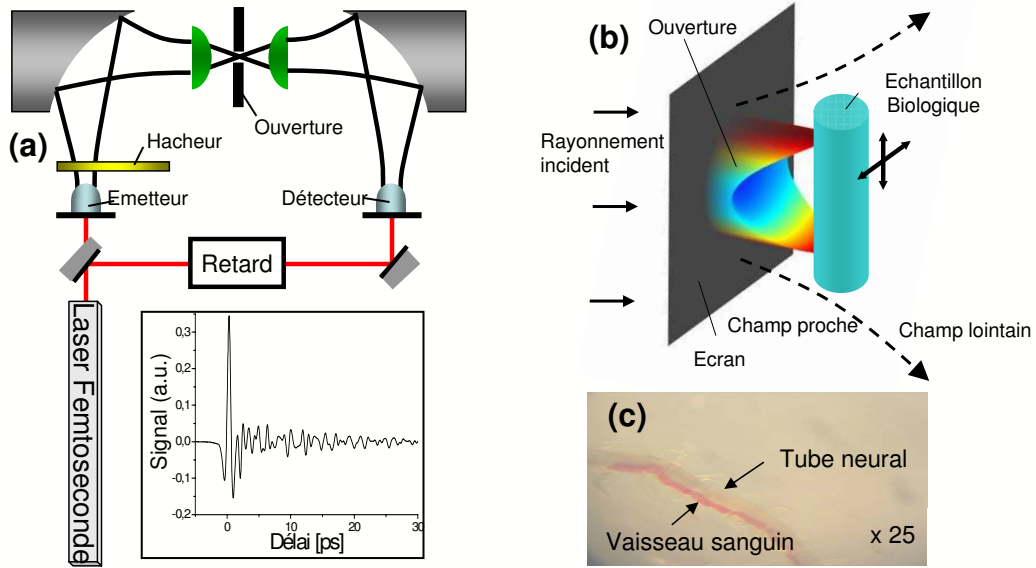


FIG. 2.8 – Représentation du système expérimental pour l'imagerie du neurone (A). Le système de génération térahertz y est représenté comme sur la figure 1.1, ainsi que le dispositif de champ proche (A et B). En sous figure C une photo du système biologique est donnée

expression

$$S(x_n) = \int \int E'(x, y) dx dy = \int \int (\int \int_{\text{trou}} G(a, b, x - x_n - X, y - Y, Z) \times E_o(d, X, Y, 0) dX dY dZ) dx dy \quad (2.14)$$

avec  $G$  la fonction de Green,  $a$  et  $b$  les grand et petit axes de l'axone,  $x_n$  la position du neurone,  $E_o$  le champ électrique dans le trou, et  $E'$  le champ électrique avant d'être envoyé à l'infini par les lentilles.

Cette technique se justifie entre autre par le fait que dans ce système expérimental, il n'y a aucun retard de signal entre les différentes positions de l'axone, de plus la proportionnalité entre les courbes de  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  dispense de faire les simulations pour toutes les fréquences.

### 2.4.3 La validité de cette imagerie

Afin de valider la méthode trois questions doivent être posées :

- Est ce que les ions sont la seule source du contraste ?
- Est-ce que les autres tissus influent sur le signal ?

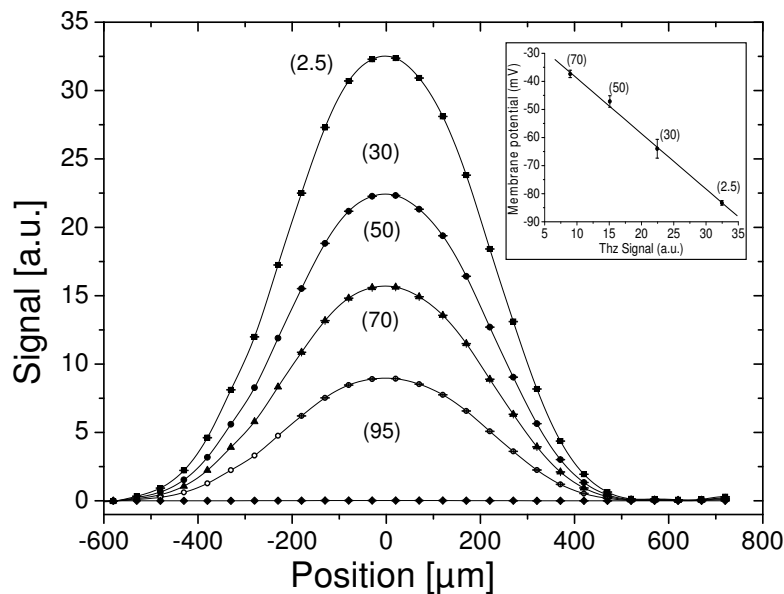


FIG. 2.9 – Test de validité de la méthode d'imagerie térahertz par contraste de champ proche. Évolution du signal térahertz et du potentiel de membrane (insert) en fonction de la molarité ionique de la solution externe et de la position de l'axone.

– Est ce que les résultats sont cohérents avec des mesures électrophysiologiques ?

Afin de répondre à ces trois questions, une expérience très simple a été menée [32] : un axone de ver a été placé dans une solution dont la molarité en ion a été augmenté afin d'atteindre ultimement la concentration interne en ions. A chaque changement de molarité l'axone a été imagé en térahertz et son potentiel a été mesuré par électrophysiologie (figure 2.9).

A mesure que la molarité ionique de la solution externe augmente, le signal térahertz diminue pour finalement avoir une disparition complète de celui-ci à l'équilibre interne/externe des ions (la cellule à ce moment ne tient que quelques instants avant d'être détruite sous les forces de pression osmotique). Ceci confirme donc que le signal est sensible à la concentration en ions, et que les tissus externes ont un effet négligeable sur le signal. Il faut noter que c'est un atout assez appréciable des térahertz, car en supprimant l'effet des muscles, des gaines de myéline, des tissus conjonctifs et autres tissus, l'accès direct au neurone et à ses caractéristiques, dans les tissus biologiques, est assuré. Enfin, à partir des mesures en térahertz, le potentiel de membrane a pu être calculé en utilisant l'équation de Nernst et être directement comparé aux mesures électrophysiologiques [49; 58; 59]. L'équation de Nernst dit que le

potentiel d'un ion en solution est

$$E_{ion} = E_{ion}^o + \frac{RT}{ZF} \ln \left( \frac{[ion]}{[ion]_o} \right). \quad (2.15)$$

Ainsi en connaissant la concentration en ion le potentiel intermembranaire peut être calculé. La correspondance avec les données électrophysiologiques est très bonne (insert de la figure 2.9).

#### 2.4.4 Les résultats

##### La reconstitution d'axone

L'imagerie de l'axone fut effectuée sur de grandes zones afin de voir sa morphologie générale [32] (figure 2.10). L'image (a) donne les résultats bruts de l'acquisition : une anomalie peut être notée, l'axone est bombé. Cette courbure vient probablement de l'inclusion d'axones plus petits directement dans le corps du neurone géant. L'image (b) montre la reconstitution tridimensionnelle du neurone, grâce à l'ajout des intensités d'absorption de cet axone. A partir de ces données, les valeurs des petit axe et grand axe de l'axone sont accessibles avec une précision de l'ordre du pour cent. La précision totale est la conséquence de la précision due à l'absorption. Car la précision latérale sur l'axone, issue de l'ensemble des mesures et des traitements, est bien meilleure.

##### L'empoisonnement à la vératridine

Le neurone (et donc l'axone) a été empoisonné avec de la vératridine [32; 49; 60]. L'effet de cette toxine est d'augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire aux ions  $\text{Na}^+$ . Un axone a donc été préparé et imagé avec la technique expliquée auparavant, puis  $5 \mu\text{M}$  de vératridine ont été ajoutés à la solution électrophysiologique, ensuite une seconde mesure a été effectuée (figure 2.11).

Sur la figure 2.11, la courbe noire correspond aux données de l'axone sans vératridine, la courbe rouge correspond à l'ajout de la vératridine, et enfin la courbe en pointillé correspond à la courbe noire normée sur la courbe rouge. Ainsi il y a effectivement une forte absorption de  $\text{Na}^+$  qui se traduit par une diminution du signal térahertz, de plus et de manière très intéressante, il y a un changement de forme du signal qui traduit un changement de forme de l'axone. En analysant le signal comme expliqué précédemment, les changements de taille de

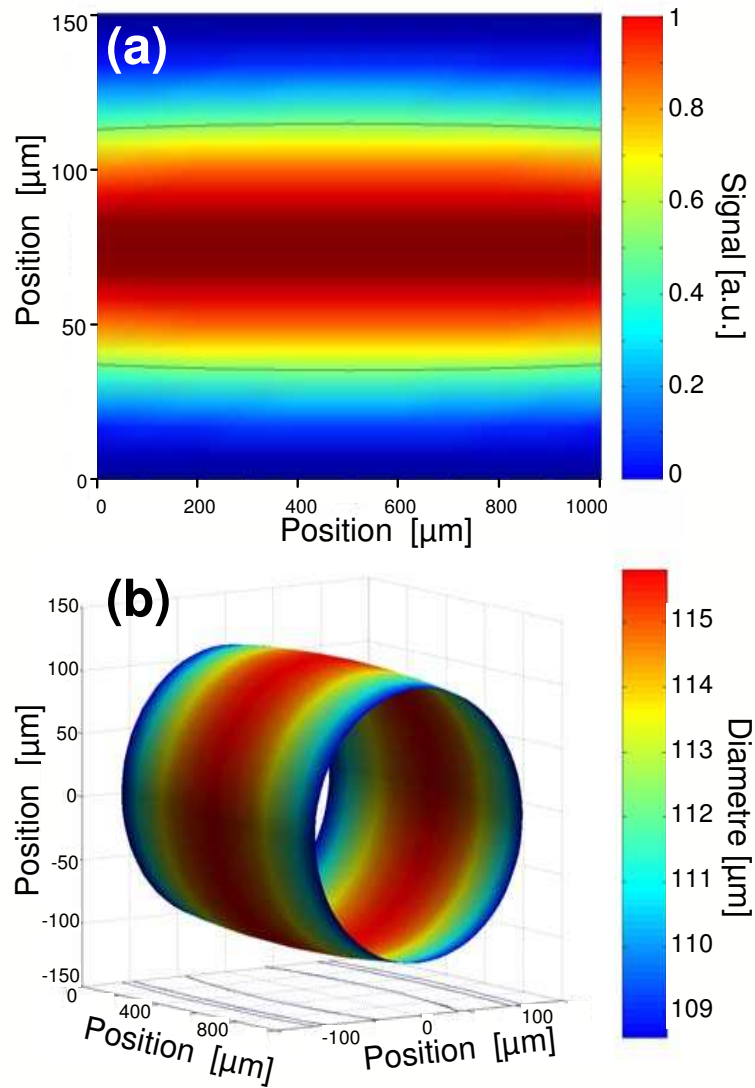


FIG. 2.10 – Résultat d'expérience d'imagerie bidimensionnelle d'un axone (A), après normalisation. Sur le second graphe (B), l'absorption a été ajoutée afin de pouvoir donner une représentation tridimensionnelle de l'axone.

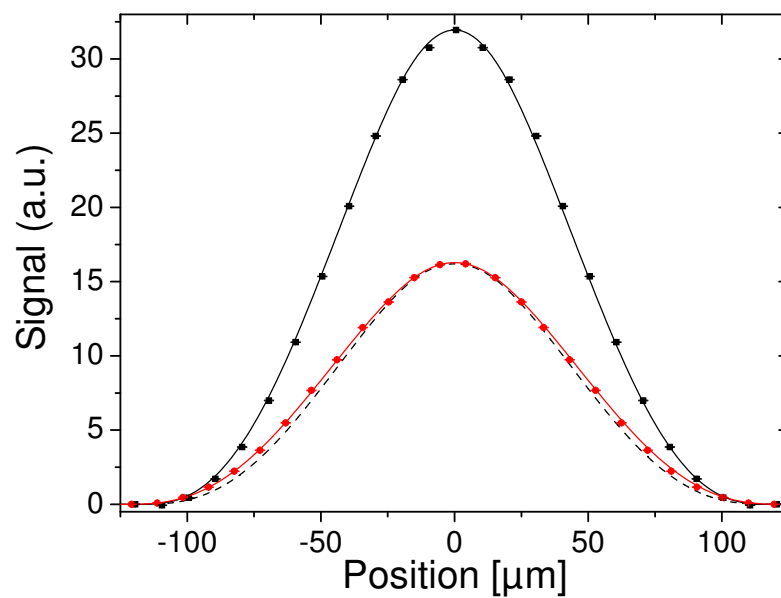


FIG. 2.11 – Courbes donnant l'effet de la vératridine sur l'axone de ver. La courbe noire (trait plein) est la référence. La courbe rouge est le signal après injection dans le milieu de 5  $\mu\text{M}$  de vératridine. La courbe noire en pointillée est la référence normée à l'amplitude du signal après injection de vératridine.



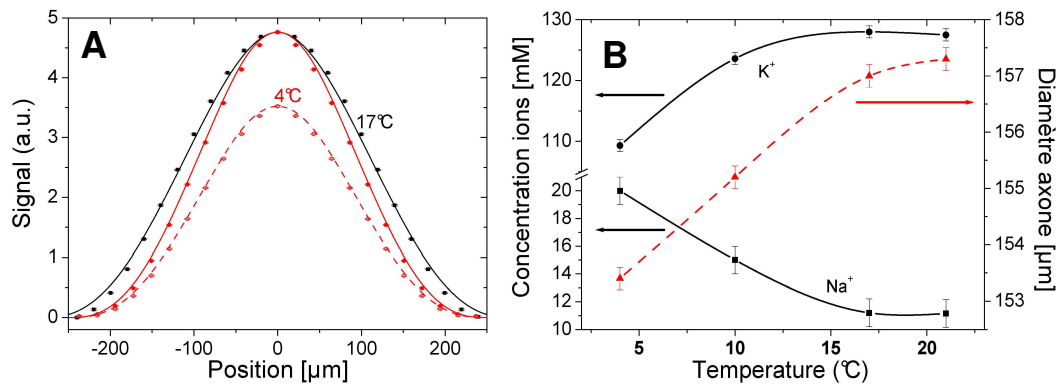


FIG. 2.12 – Effet de la température sur l'axone de ver. Sur la courbe **A** l'évolution du signal térahertz est donnée en fonction de la position de l'axone et de la température. La courbe rouge faite d'un trait plein est la normalisation de la courbe rouge en pointillé à l'amplitude de la courbe faite à 17°C. Sur la courbe **B** l'évolution de la concentration en  $\text{K}^+$  et en  $\text{Na}^+$  ainsi que l'évolution du diamètre de l'axone sont données en fonction de la température du milieu.

l'axone peuvent être déterminés avec une grande précision. Ainsi, il y a eu une variation de diamètre d'un facteur  $1.112 \pm 0.001$  correspondant à une rentrée d'eau de  $0.91 \pm 0.01 \text{ pl} \times \mu\text{m}^{-1}$  d'axone. Il y a donc une rentrée massive d'eau dans l'axone, qui accompagne la rentrée de sodium. De plus, en prenant un modèle de solvatation des ions de type coquille de solvatation, il y a une rentrée d'eau bien plus massive que la quantité nécessaire pour transporter le sodium.

### La variation de température

Un autre effet étudié fut celui du changement de température [32; 61] sur l'état des axones de ver. Les variations de température affectent l'activité de l'échangeur  $\text{Na}/\text{K}$  activé par l'ATP [49]. L'imagerie de contraste ionique va ainsi permettre de voir si ces changements d'activité sont associés à des mouvements d'eau.

Sur la figure 2.12 A est représenté le profil de champ térahertz, avec en noir les courbes correspondant à 17°C, en rouge avec les cercles creux les courbes correspondant à 4°C, et en rouge avec les cercles pleins les courbes correspondant à 4°C normalisées. Sur la seconde figure 2.12 B est regroupée l'analyse des données où l'évolution de la concentration interne en  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et l'évolution du diamètre de l'axone en fonction de la température extérieure

de l'échantillon, sont représentées. De manière attendue la diminution de la température provoque une diminution de la concentration interne en  $K^+$ , une augmentation de celle en  $Na^+$ , mais là encore de manière surprenante une diminution très conséquente de la taille de l'axone correspondant à une sortie d'eau. Une variation relative de diamètre de  $1.025 \pm 0.001$  peut être observée : elle correspond à un échange d'eau de  $0.93 \pm 0.01 \text{ pl} \times \mu\text{m}^{-1}$ . Là encore la variation d'eau est conséquente et inattendue.

Ceci peut avoir des conséquences assez importantes car des changements de tailles de neurones sont aussi des changements de surfaces et donc de capacité électrique et de résistivité. Le signal électrique peut donc être modifié au cours de sa propagation par les flux d'eau. Une autre conséquence du changement de comportement de l'axone avec la température, est que le fonctionnement de tout système biologique s'accompagne de variations de température, dont il peut être vu qu'elles peuvent affecter de manière non négligeable le fonctionnement des neurones. Il faut aussi remarquer que cette propension à l'échange massif d'eau apparaît comme un élément à prendre en compte pour l'analyse des signaux d'IRM par diffusion d'eau [5].

### 2.4.5 Conclusion

L'imagerie de contraste ionique térahertz est un outil particulièrement approprié pour l'imagerie de neurones offrant un accès direct, sans marqueurs, tant aux caractéristiques géométriques qu'aux caractéristiques physiologiques de ceux-ci. Cet accès est rendu possible par le fait que le rayonnement térahertz est principalement sensible aux concentrations ioniques. Ainsi cette technique offre la possibilité de plonger dans des tissus épais, jusqu'à 1 mm, et de voir à l'intérieur de ceux-ci les neurones fonctionner. De plus cette technique se fait sans invasivité d'aucune sorte.

Il est maintenant certain que l'eau joue un rôle essentiel dans l'activité biologique du neurone. La construction prochaine d'un microscope complet térahertz permettra de visionner ces flux d'eau sur différents types de neurones stimulés électriquement. Il offrira même la possibilité de voir le signal se propager entre différents neurones.

## 2.5 Imagerie des flux ioniques dans du muscle cardiaque

### 2.5.1 Introduction

Dans la partie précédente l'imagerie de contraste ionique térahertz a été appliquée sans résolution temporelle. Elle a permis une confirmation de l'importance biologique des flux d'eau dans les axones. Or, les flux d'ions peuvent aussi traduire des faits biologiques majeurs. Ainsi un évènement cardiaque, un arrêt, un infarctus, un extrasystole, etc., voient des signes précurseurs se manifester par flux d'ions à travers le coeur [4]. Il a fallu donc adapter les possibilités de l'imagerie de contraste ionique térahertz à des flux de variations temporelles rapides. Le système biologique qui fut choisi, le muscle auriculaire de coeur de grenouille, a la particularité d'être autostimulé. Ainsi il continue de battre spontanément après son ablation. Une partie des protéines membranaires qui permettent le passage des ions fonctionnent grâce à de l'ATP [49]. Ainsi un agencement subtil de ces protéines pour différents ions, peut permettre de créer un déséquilibre permanent [49] entre les concentrations ioniques des compartiments intérieurs et extérieurs de certaines cellules et donc de les faire générer automatiquement des potentiels d'actions. C'est le principe (très simplifié) de fonctionnement de la plupart des organes qui propulsent le sang chez les animaux.

### 2.5.2 L'expérience

De la même manière que pour l'imagerie statique, l'imagerie est basée sur le contraste de champ proche [30; 31]. La taille du trou est toujours une variable des conditions expérimentales et surtout du rapport signal sur bruit. L'échantillon biologique est placé derrière le trou et le signal est ensuite refocalisé sur l'antenne réceptrice.

L'échantillon biologique choisi fut le muscle auriculaire de coeur de grenouille [62]. Il a deux avantages, une grande résistance physique, et surtout sa capacité à continuer à battre pendant plusieurs dizaines de minutes hors du coeur. De plus les battements peuvent reprendre suite à une stimulation mécanique du muscle dans une solution de Ringer. L'échantillon est préparé juste avant l'imagerie. Le coeur est retiré du thorax de la grenouille et plongé dans une solution de Ringer. Puis un trabécule atrial est disséqué du muscle auriculaire, et est très fermement fixé sur une ouverture à l'aide d'épingles et de vaseline. Le muscle est contraint de sorte à n'avoir de mouvements possibles que dans la direction de propagation du faisceau

térahertz. Donc, au cours du temps le muscle bat, à cause de déséquilibres ioniques provoqués par des pompes activées par l'ATP, qui finissent par développer des potentiels d'actions.

L'acquisition temporelle est ici d'une grande simplicité. Le très bon rapport signal sur bruit permet, afin d'avoir la résolution temporelle, de se contenter de réduire le temps de moyennage de la détection synchrone. Le temps d'acquisition choisi fut de 10 ms.

### 2.5.3 Les résultats

Le signal mesuré est la somme de deux signaux [63], celui du mouvement mécanique du muscle et celui du mouvement des ions dans l'échantillon. Afin d'avoir des courbes à très bon rapport signal sur bruit, un moyennage des courbes sur 10 cycles cardiaques a été utilisé. Afin de faire cela un programme recherche automatiquement la période du signal et effectue les moyennes. Ensuite pour extraire la composante ionique du signal, le mouvement mécanique est modélisé par une sinusoïde. Les mouvements des ions est alors traduit par une variation du signal au cours du temps (figure 2.13).

Sur l'échantillon considéré, la période de battement est de  $1.49 \pm 0.01$  s et la durée principale d'évolution du flux ionique est de  $0.390 \pm 0.01$  s. De plus le signal ionique décline avec le temps, c'est-à-dire que le flux général d'ions diminue avec le temps (figure 2.14). Cette diminution se fait en deux phases : entre 0 et 15 min le signal est quasi-constant puis il y a une diminution conséquente du flux d'ions avec une évolution de forme générale linéaire pour arriver finalement à un arrêt du battement vers 50 min.

La forme du signal peut être analysée plus avant et la correspondance avec des résultats électrophysiologiques être établie. La phase ascendante du potentiel d'action a pour origine la dépolarisation de la membrane due à l'entrée du sodium causée par l'ouverture des canaux sodium voltage dépendants. La phase descendante du signal, après 300 ms, est due à la repolarisation de la membrane par des flux d'ions potassium à travers des canaux potassium voltage dépendants. Sur la figure 2.13, à  $t=5$  min ces deux phénomènes sont clairement visibles. Cependant la ligne de base du signal se déplace vers de plus grandes valeurs, traduisant une dépolarisation générale de la fibre. Des données quantitatives caractérisant ces phases de montée et de descente peuvent être extraites en regardant l'évolution de l'amplitude  $V_{2/3} = V(t = \frac{2}{3}t_{max}) = \frac{dS}{dt}(t = \frac{2}{3}t_{max})$  avec  $t_{max}$  le temps pour lequel le signal est maximal et  $S$  le signal (figure 2.15).

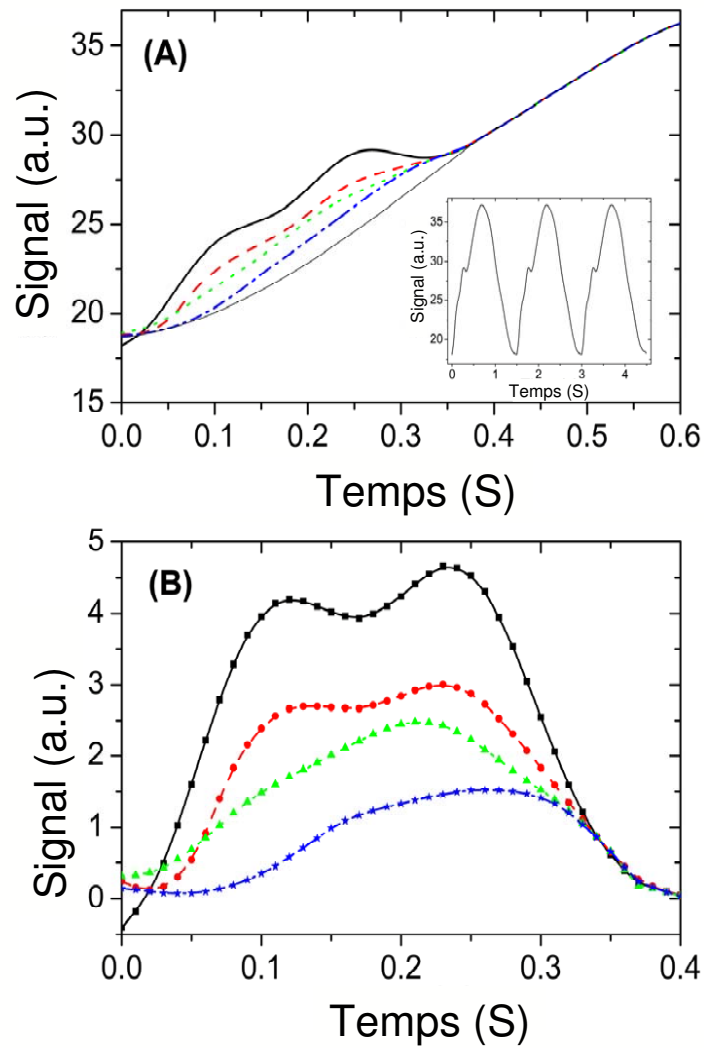


FIG. 2.13 – La courbe **A** donne le signal térahertz total détecté, à 5 min (noir épais), 20 min (rouge), 40 min (vert), 50 min (bleue), et en figure incluse le signal complet sur trois périodes est exposé. La figure **B** donne la composante ionique du signal.

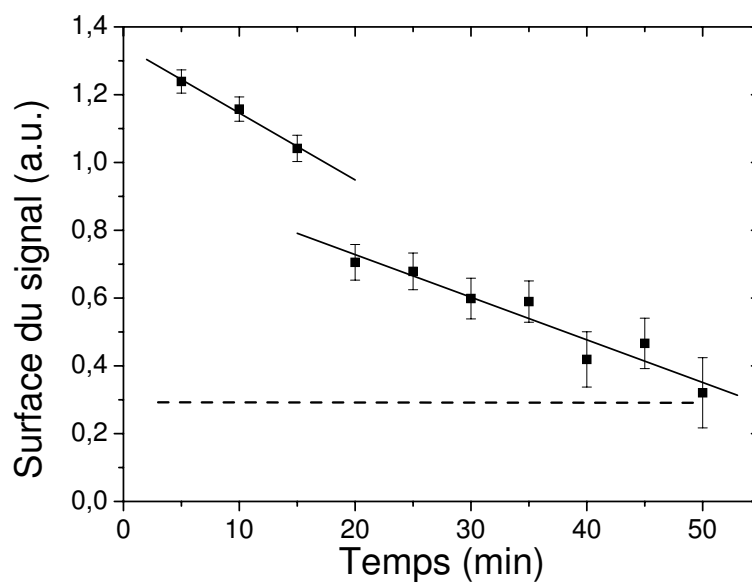


FIG. 2.14 – Evolution de la surface des courbes ioniques donnant ainsi le déclin temporel du flux ionique total.

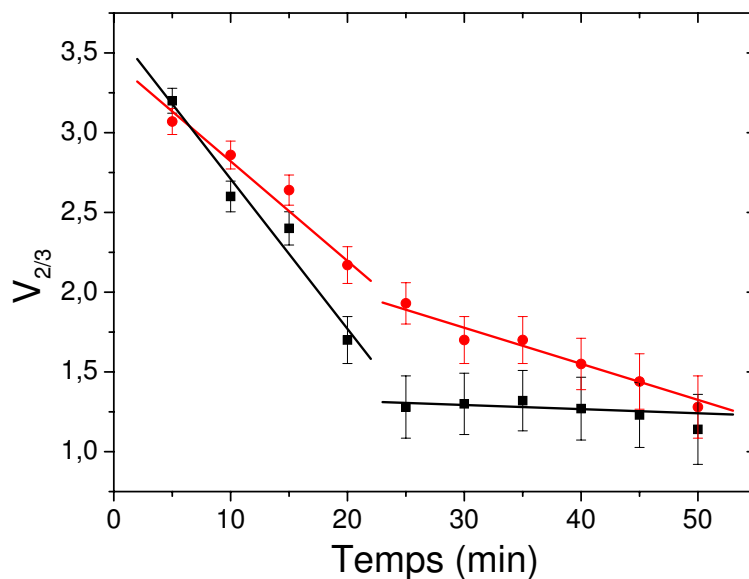


FIG. 2.15 – Évolution de  $V_{2/3}$  pour la phase de montée (noir) ainsi que pour la phase de descente (rouge).

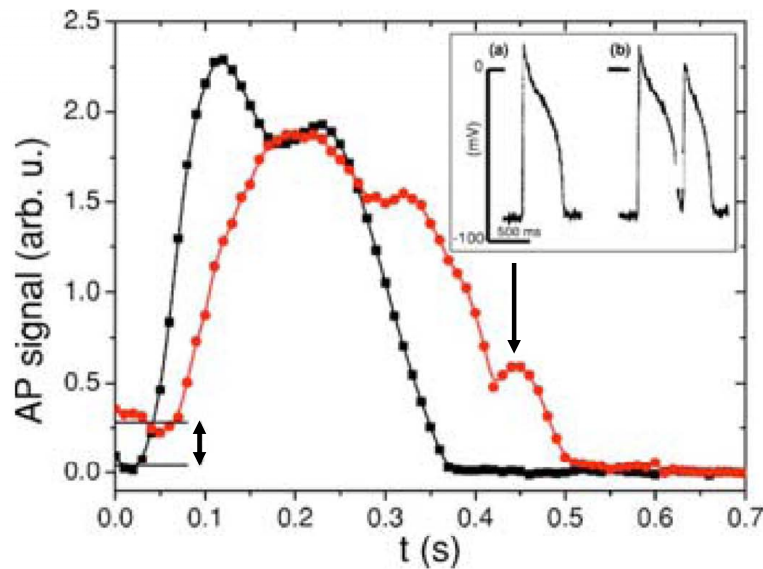


FIG. 2.16 – Évolution du flux ionique après relancement du coeur, en noir la courbe juste après relancement, en rouge la courbe 30 minutes après. Il y a une dépolarisation de l'échantillon montrée par la première flèche. La seconde flèche montre l'extrasystole. Enfin la figure insérée montre des courbes expérimentales de référence effectuées par des mesures électrophysiologiques.

Il y a une évolution différente pour les phases de montée et de descente. Pour la première,  $V_{2/3}$  diminue rapidement après 20 min puis reste faible et stable. Pour la seconde, la chute de  $V_{2/3}$  est continue et associée à la repolarisation par les flux de potassium. Ces données sont cohérentes avec la littérature sur le sujet.

Enfin après que le coeur se soit arrêté et ait été relancé, l'augmentation de la durée des flux ioniques a été observé [63] (figure 2.16). Il y a une augmentation de 50% de la durée du signal. L'élargissement temporel des flux d'ions va jusqu'à  $610 \pm 10$  ms. Au delà de ce temps le comportement du coeur devient plus erratique avec des périodes de fortes arythmies et des périodes de pseudo-battements normaux. Enfin sur la figure 2.14 une extrasystole, qui correspond au pic surnuméraire sur la courbe rouge, apparaît très clairement. Ces données sont compatibles avec des mesures d'électrophysiologie de référence.

Pour finir, et afin de tester la méthode d'extraction de données explicitées auparavant, mais cette fois-ci en mode dynamique, l'évolution de la taille des trabécules a pu être analysée : elles prennent des valeurs allant de  $173 \pm 1 \mu\text{m}$  à  $175 \pm 1 \mu\text{m}$ .

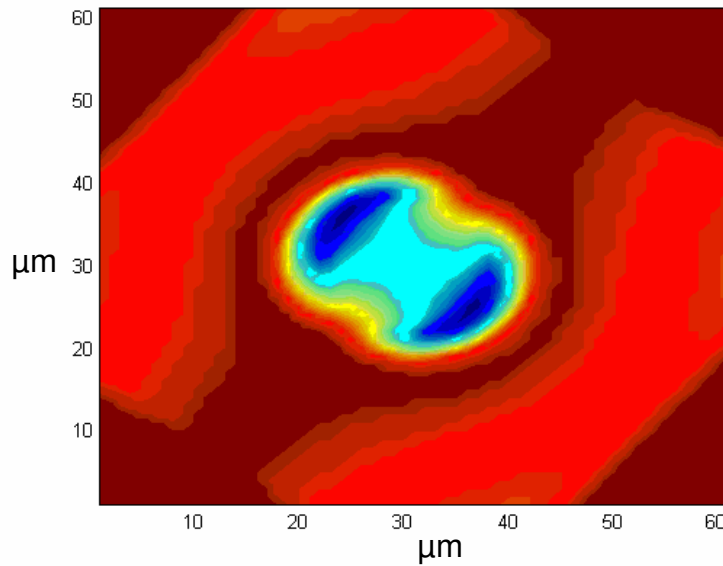


FIG. 2.17 – Simulation du signal térahertz détectable lors d’une expérience de contraste de champ proche appliquée à un globule rouge de grenouille.

#### 2.5.4 Remarques, perspectives et considérations

- Dans ce chapitre il a été principalement fait référence à l’analyse de données unidimensionnelles grâce au contraste de champ proche, ou à l’analyse de données bidimensionnelles dont seule une donnée unidimensionnelle était utile. Cependant une analyse totale est possible en deux dimensions. Cependant l’augmentation de précision spatiale ne sera pas disponible sur tout l’ensemble de l’image bidimensionnelle. Mais des paramètres géométriques d’objets simples pourront eux être extraits avec la même précision que ceux des neurones. Les expériences menées actuellement se penchent sur l’état des globules rouges de grenouille [64] sous différents stress. Ces globules rouges sont très proches de sphéroïdes oblates. Sur la figure 2.17 une simulation typique de l’expérience est donnée.
- En discutant de la question des données extraites, il peut être utile de revenir à la question de la précision des mesures des neurones. Il y a toujours des débats sur l’analyse d’image, et sur la réalité de la précision qui peut être extraite du traitement. L’argument utilisable dans le cas considéré, est la simplicité de la géométrie qui autorise une grande maîtrise dans la déconvolution du signal. Il y a un accès direct entre la forme de la courbe et la taille de l’axone. Ainsi la précision obtenue peut être considérée comme



valable.

- Il y a une inquiétude au niveau des cuves à ions. Il est à craindre que le mouvement trop lent des ions rende cette imagerie problématique pour un grand nombre d'ions en solution. Ce problème apparaît moins grand si le nombre de type d'ions présent dans la solution est connu à l'avance. Cependant un mécanisme permettant de re-mélanger la solution rapidement paraît tout à fait envisageable.
- Pour les adeptes de la mesure de précision une expérience est à mener. Dans des expériences térahertz, avec un laser de grande qualité, dont l'intensité est mesurée à tout instant, et dont le mouvement de faisceau est corrigé en temps réel, la précision, pour un retard temporel fixé, de mesure d'absorption, est simplement dépendante du temps d'intégration. Ainsi il est imaginable que la mesure aille loin en précision. Une expérience de déplacement d'ions permettrait donc d'avoir accès avec une nouvelle précision au rapport  $\frac{F}{k_B}$ , de la constante de Faraday sur la constante de Boltzmann.
- Il est à noter qu'il faut une certaine méfiance envers la programmation en éléments finis. Non qu'elle ne fournisse pas de très bons résultats, mais il y a un certain manque de critères pour définir la validité d'une simulation. Ainsi une source d'éléments de confusion est la double dépendance de la précision des données calculées. Par exemple, la précision spatiale du champ électrique est définie par le maillage. La précision du champ obtenue dans la simulation est aussi donnée par la précision prédéfinie par l'algorithme. Mais par le phénomène physique, il y aura couplage de la première précision sur la seconde. Ainsi, à la fin de la simulation, la précision complète de la simulation reste floue. Ceci peut avoir de grandes conséquences dans des simulations de champ proche où la divergence du champ joue un rôle majeur. C'est d'ailleurs pour cela que dans chaque simulation effectuée tout au long de ce travail différentes procédures furent utilisées pour s'assurer que le résultat pouvait être considéré comme valable. Par exemple, lors de la programmation de la propagation du champ électromagnétique à travers une ouverture de taille inférieure à la longueur d'onde, il fut pris grand soin de trouver pour l'ouverture seule un résultat cohérent avec l'analyse théorique.

### **2.5.5 Conclusion**

Dans ce chapitre, il a pu être confirmé que l'eau doit jouer un rôle majeur dans la biologie cellulaire. Cette confirmation est le fruit d'une technique d'imagerie qui a été nommée : l'imagerie de contraste ionique térahertz. Elle est le résultat de la combinaison de la sensibilité ionique des ondes térahertz avec la méthode et le concept de contraste de champ proche. Cette technique offre aussi des possibilités d'avoir un accès direct et non perturbatif aux mouvements d'ions dans les cellules. De plus, la possibilité d'imager les flux d'ions de manière résolue en temps, et la possibilité de guider le rayonnement térahertz, laisse espérer l'utilisation de l'imagerie de contraste ionique térahertz à des visées de diagnostic médical.



# Chapitre 3

## Physique statistique des plasmons

### 3.1 Introduction

Depuis la publication dans la revue *Nature* de l'article de Thomas Ebessen *et al.* [7], il y a un grand renouveau des plasmons polaritons de surface. Le débat portant d'ailleurs sur cette dénomination sera en partie retraduit dans la partie "état de l'art" de ce chapitre. Dans cet article il a été montré qu'un réseau de trous, de taille inférieure à la longueur d'onde du rayonnement qui l'éclaire, est capable de coupler vers l'extérieur plus d'énergie que la surface des trous ne l'autorise. Les fréquences de résonance observées y sont proches des valeurs prédites par le modèle des ondes de Bloch :  $\nu = \frac{c}{L} \sqrt{i^2 + j^2}$  avec  $c$  la vitesse de la lumière,  $L$  la période des trous sur la plaque,  $i$  et  $j$  des entiers positifs. Les spectres transmis présentent des résonances prononcées et fortement dissymétriques. Les articles publiés par la suite montreront que de nombreux paramètres jouent sur cette transmission, comme la taille et la forme des trous, l'épaisseur de la couche métallique, la nature du métal, la partie du spectre électromagnétique utilisée etc.

Les plasmons polaritons [7; 65–67] sont le résultat du couplage d'oscillations mécaniques d'électrons couplés à des photons. Leur utilisation originelle était motivée par des considérations spectroscopiques et l'obligation de travailler sur couche mince. La présence de molécules biologiques à la surface de ces plaques peut modifier les interactions entre le métal et le rayonnement et ainsi des changements d'états de molécules ou de multiples interactions sont traduits par des modifications de transmission de ces plaques. Un exemple de modification peut être vu sur la figure 3.1. Le changement de transmission de la plaque recouverte de

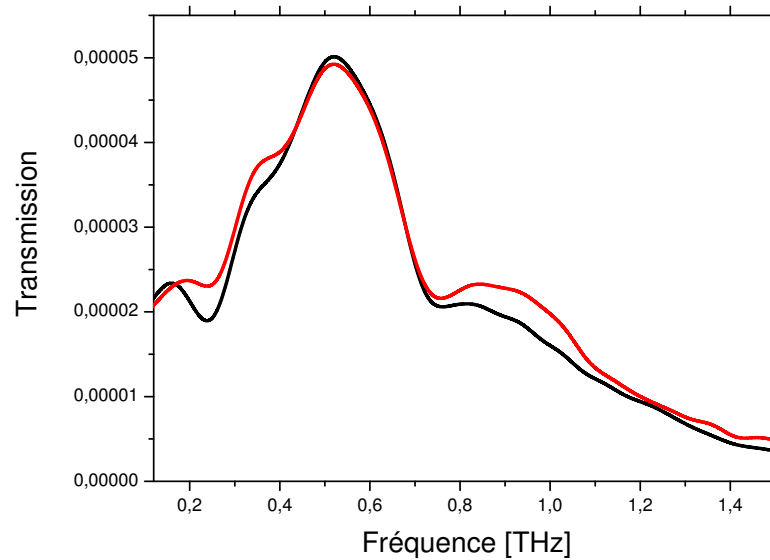


FIG. 3.1 – Spectres de transmission de la bactériorodhopsine (sous atmosphère humide) sans lumière (en noir) et avec lumière (en rouge) sur une plaque à trous carrés de période  $400 \mu\text{m}$ .

bactériorodhopsine (pompe à proton photoactivable) avec ou sans lumière (visible) est dû au changement de configuration de la protéine.

Cependant afin de pouvoir tirer le plus d'information possible du signal transmis, il fut décidé d'étudier profondément les différents phénomènes ayant lieu à la surface de ces plaques. L'étendue et l'augmentation constante du débat sur la transmission de ces plaques prouvent à quel point ce système est intéressant.

Ce troisième et dernier chapitre présentera donc le travail sur ces plaques. Il sera constitué de deux parties distinctes par la nature de la modélisation du phénomène physique ayant lieu sur ces plaques. La première partie sera focalisée sur le modèle de Fano et sur les interactions possibles entre plasmons polaritons sur des plaques à géométries complexes. Ces différentes expériences pousseront à réexaminer en grand détail l'effet de certains paramètres géométriques de ces plaques sur le rayonnement transmis par celles-ci. Les résultats obtenus feront l'objet de la seconde partie. Ils aboutiront à la découverte de transitions de phase du premier et du second ordre et au modèle de percolation comme description de ces deux transitions. Finalement, des effets de résonance stochastique seront présentés. Ils apporteront une cohérence aux découvertes des transitions de phase.

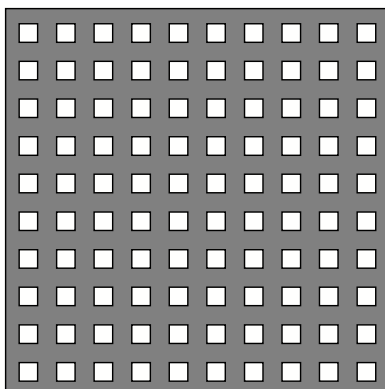


FIG. 3.2 – Représentation d'une plaque typique pour les expériences de génération de transmission anormales. La taille des trous est inférieure à la longueur d'onde.

## 3.2 État de l'art et problématiques

Faire un état complet des connaissances sur les plasmons polaritons de surface ou même simplement sur les plasmons polaritons générés par les réseaux de trous de taille inférieure à la longueur d'onde s'avère complexe. Même le simple fait d'écrire le terme plasmon polariton est déjà un problème [68–71], car cela revient à prendre parti. Le nombre et la diversité des publications sont grands : plus de 10 publications dans *nature* et *science* et plus de 20 dans *Physical Review Letters*, ces publications étant très souvent contradictoires les unes avec les autres, tant du point de vue expérimental que du point de vue théorique. De plus, en pratique, les résultats trouvés et expliqués dans la suite du document poseront des problèmes de compatibilité avec ces modèles.

Il est possible de manière brève de donner quelques caractéristiques simples et habituelles de l'émission de ces plaques à trous. Une plaque type est représentée sur la figure 3.2 ; elle est constituée d'un réseau périodique de trous (carrés dans ce cas) percés sur un métal. Suivant le domaine optique dans lequel le travail est fait, cette plaque soit sera sur un substrat (visible) soit pourra tenir d'elle-même (térahertz).

Un spectre typique que ce genre de plaques peut transmettre est montré sur la figure 3.3. Sur ce spectre les principales caractéristiques de ces transmissions peuvent être vues : une forte première résonance, de forme asymétrique, décalée de sa fréquence théorique de résonance prévue par la période des trous sur la plaque, des résonances secondaires et tertiaires, et une forte transmission à certaines fréquences.

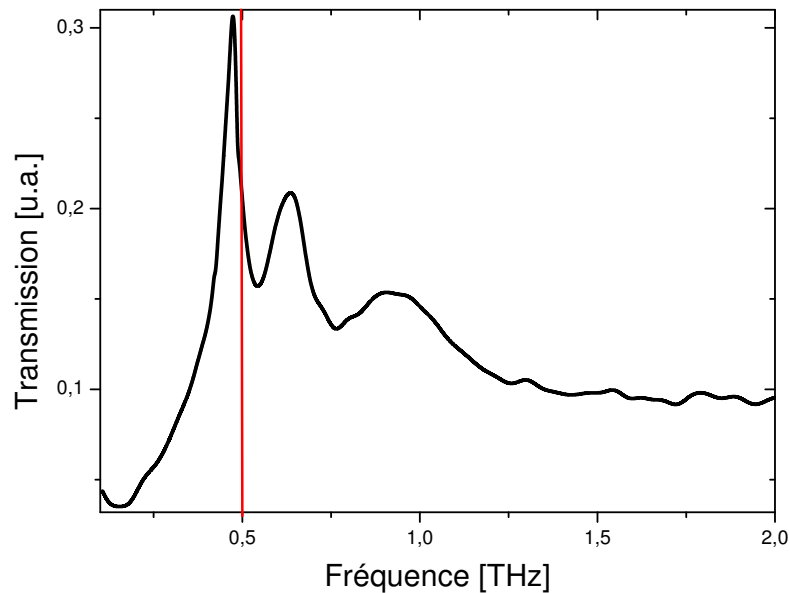


FIG. 3.3 – Spectre de transmission d’une plaque percée de trous avec une période de  $600 \mu\text{m}$ . Les trous sont carrés et ont pour longueur de côté  $210 \mu\text{m}$ . La droite verticale rouge signale la fréquence de résonance prévue par la période des trous sur la plaque.

Cette partie présente un état partiel et problématisé des connaissances, qui inclut entre autres les difficultés que rencontrent ces modèles. Le concept de plasmon de surface [72] a, à peu près, quarante ans [73; 74]. Il a depuis subi de nombreuses évolutions. Il a connu un fort renouveau lors de la publication par T. Ebbesen *et al.* dans la revue *Nature* de son désormais fameux article sur les transmissions anormales à travers des réseaux de trous de taille inférieure à la longueur d’onde [7] : il pouvait y être lu que ces plaques voyaient plus de lumière passer que leur surface de trous ne l’autorisait. Les différentes caractéristiques des transmissions par celles-ci y étaient aussi longuement commentées. Suite à cette publication une grande effervescence a eu lieu pour explorer et mieux comprendre le phénomène physique prenant place sur ces plaques.

Des les premières publications, un exemple de problème rencontré fut la dénomination du phénomène ayant pour effet la transmission anormale. Chaque expérience voyait un nouveau nom et un nouveau concept y être associé : plasmon de surface [7; 71], plasmon polariton de surface [71; 75; 76], plasmon de surface localisé [77], plasmon de surface d’ordre fractionné (entendu lors d’une présentation, apparemment non publié pour le moment), plasmon de surface horizontal orienté [78], ondes évanescentes composites diffractées [79–82], etc. Les

interprétations de ces termes varient suivant le système, la longueur d'onde utilisée, la culture scientifique d'origine des auteurs des auteurs. De nombreuses autres publications prétendaient aussi que le phénomène était déjà connu et qu'il était complètement explicable par : des anomalies de Wood [83] ou des anomalies de Rayleigh [84] ou de simples ondes guidées ou des effets d'ondes de Bloch [85], etc.

Dans la littérature anglo-saxonne [72] ce type de définition peut être trouvée : "les plasmons polaritons de surface sont des ondes électromagnétiques qui se propagent à l'interface entre un métal et un diélectrique. Pour qu'ils existent, il faut que les parties réelles des constantes diélectriques des deux matériaux soient de signe opposé". Cette définition cependant apparaît fort souvent pour des plasmons polaritons de surface dans le visible, et traduit souvent un phénomène lié en plus à un plasmon tout court, c'est à dire à une excitation du matériau à sa fréquence de résonance plasma.

Une définition plus neutre serait [65] : le phénomène se caractérise par des oscillations cohérentes d'électrons liés à des photons et mus par des forces électromagnétiques sur une interface. Cependant, cette définition peut être considérée comme un peu vague et il est difficile avec elle de faire la différence entre plasmons et plasmons polaritons. C'est tout de même une définition intéressante.

Il peut être introduit, de manière générale, les grand cadres mathématiques qui servent de bases aux tentatives de résolutions des problèmes. Il existe plusieurs familles de méthodes possibles, qui sont en général non justifiées, c'est-à-dire qu'aucun argumentaire n'est donné pour justifier ce développement, cette famille de fonction, cette condition aux limites, etc. Il y a donc les fonctions de Green [11–14; 23; 24], en général non perturbées par le milieu, qui sont propagées et couplées selon des lois choisies par les auteurs sur les réseaux de trous. Parfois, des développements de ces fonctions de Green sur des composantes champ proche peuvent apparaître [11–14; 23] . Il y a les développements classiques, ondes planes, ondes sphériques, ondes cylindriques et ondes Bessel-Fourier, qui sont propagées et la encore couplées suivant les choix des auteurs [11–14]. Ensuite il y a toute une famille de décompositions basées sur des effets de géométrie [12–14] avec différentes catégories de fonctions qui paraissent appropriées. Enfin il y a les méthodes informatiques pures, qui résolvent les équations de Maxwell de manière locale, comme la programmation en éléments finis [27; 28] et la méthode des différences de temps finies par domaine (FDTD [86]).

Différentes méthodes ont également été utilisées. Une des méthodes qui fut employée il y a



plus de 30 ans, [73; 74] et réemployée maintenant utilise une approche par des modes de guides d'ondes, qui donne des résultats assez proches des expériences, surtout dans les micro-ondes, lorsque la taille des trous est très petite par rapport à la période de ceux-ci sur la plaque, ou alors justement très proche de cette période [73; 74]. Les reproches sur ce genre de théorie, comme expliqué dans la première partie de cette thèse, sont le caractère purement scalaire de ces théories [33; 34], les privant de pouvoir réellement satisfaire les conditions aux limites. De plus guider un rayonnement dans des objets de longueur  $\lambda/100$  paraît problématique. Ainsi les approximations usuelles des équations de Maxwell [11–15] sur ce type de taille ne peuvent être simplement faites.

Des développements récents essaient de combiner des ondes qui se propagent en surface avec des modes confinés, et tentent de correspondre de façon phénoménologique aux résultats expérimentaux. Ces modèles sont les plasmons de surface horizontalement orientés [78], les modifications sur les anomalies de Wood [83] et sur les anomalies de Rayleigh, les modes diffractés et les modes de cavités [76; 87]. Là encore le caractère purement scalaire ou vectoriel pose entre autres le problème de conditions aux limites. De plus, le guidage à travers des objets de taille inférieur à la longueur d'onde n'est pas vraiment justifié, et il est uniquement calculé par une forte augmentation des ordres de développement des calculs.

Certains modèles sont plus ou moins en rupture avec ces conceptions, comme celui de M.M.J. Treacy [88] qui se libère de la conception de plasmon pour dire que tout peut-être expliqué avec de la diffraction vectorielle. Cependant il y a là encore des flous sur les conditions aux limites. De plus ce modèle est construit de manière adimensionnelle et les courbes théoriques obtenues ne pourront pas correspondre à la fois à des données issues d'expériences dans le visible et d'expériences dans les térahertz. Cette méthode est tout de même principalement basée sur un développement vectoriel [11–15; 33; 34] par fonction de Green et néglige le fait que les trous sont de taille inférieure à la longueur d'onde. De même le modèle de David Crouse et Pavan Keshavareddy [71] semble se séparer des plasmons classiques pour voir dans ces phénomènes des sortes d'effet Fabry-Perrot de surface. Là encore c'est un couplage entre des diffractions de surface et des modes guidés par les trous qui est utilisé.

Un des derniers modèles apparus est celui des ondes évanescentes composites diffractées [79–82]. Il est construit sur la solution de l'équation bidimensionnelle de Helmholtz, avec des conditions aux limites "slab-like". Une partie de l'onde est diffractée sur les coins des trous, et une autre partie est guidée dans le trou. Un des arguments problématiques est le contour-

nement des conditions aux limites de Bethe-Bownkamp [33; 34] et le caractère très scalaire de la théorie. Enfin il faut signaler qu'une des hypothèses de ce type de modèle consiste à postuler que le champ à l'entrée du trou est constant, qu'il vaut la norme du champ incident, et qu'à côté le champ est nul. Par la suite, ce champ nul est développé en ondes évanescentes, ce qui paraît difficilement justifiable. Cependant ce modèle, qui prend quelques libertés avec la conservation de l'énergie, a le mérite de justifier ouvertement ses hypothèses. Dans de nombreux modèles, le non respect des conditions aux limites a le même effet de ne plus conserver exactement l'énergie.

Les phénomènes et interactions ayant lieu sur ces plaques sont mal compris et les données découvertes lors de cette étude apporteront un nouveau niveau de doute et de complexité.

Le choix de finir par appeler le phénomène sous le terme de plasmon polariton de surface, n'est pas aisé, et dans le fond ce travail ne va pas forcément que dans la direction de cette dénomination. Une des raisons est que c'est une dénomination qui fait intervenir l'idée nette du rôle de l'électron, ce qui apparaîtra comme essentiel dans la suite.

### 3.3 Modèle de Fano étendu

Le modèle de Fano [89] permet de s'extraire d'une vision strictement liée à l'optique et permet ainsi de comprendre différemment ce problème. Dans cette partie, le potentiel d'interaction des plasmons polaritons de surface sera extrait expérimentalement et modélisé.

#### 3.3.1 L'expérience

L'expérience consiste en une simple spectroscopie de plaques percées de trous de taille inférieure à la longueur d'onde. Ainsi les spectres de transmissions de plaques ayant des trous triangulaires, ronds, carrés, et pentagonaux de différentes tailles ont pu être étudiés. La période spatiale choisie fut  $600 \mu\text{m}$ . Voici un exemple de spectre sur la figure 3.4.

#### 3.3.2 Le modèle

Dans cette partie, le débat sur la source de la transmission anormale n'est pas pris en compte, elle sera considérée comme provenant de plasmons polaritons de surface, mais le propos reste ici tout à fait général.

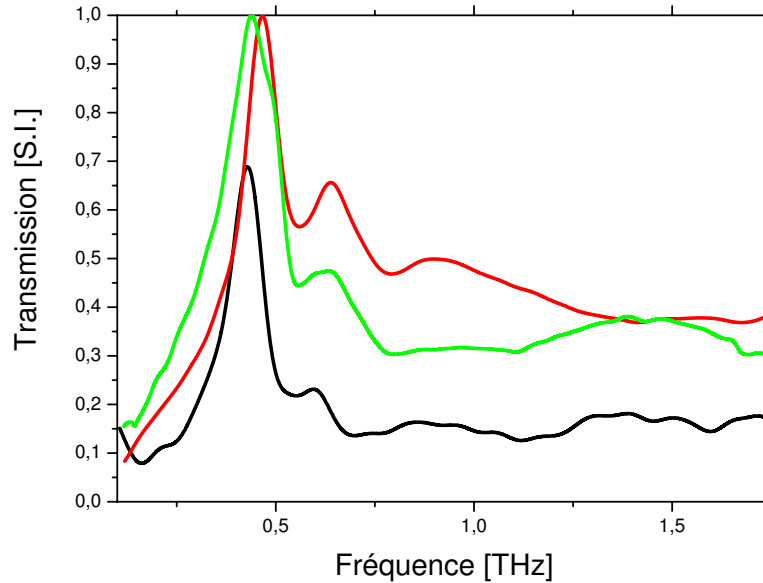


FIG. 3.4 – Spectres de plaques avec des trous triangulaires de cotés  $190 \mu\text{m}$  (noir), des trous ronds (rouge) de diamètre  $270 \mu\text{m}$  et des trous carrés de cotés  $330 \mu\text{m}$  (vert).

Si un photon de fréquence  $\nu$  veut traverser la plaque, il a en quelque sorte deux choix : il peut traverser directement un trou, ou être réémis par les bords du trou après s'être couché dessus (processus de Bethe), soit traverser en passant par le plasmon polariton de surface. Il est alors concevable de considérer que le système est constitué d'un continuum (la diffraction par les trous) en interaction avec un niveau isolé (le plasmon polariton de surface), et que les photons, qui veulent traverser, ont le choix entre une diffusion par le continuum ou une diffusion par le niveau isolé. Ceci est une description assez proche du phénomène d'auto-ionisation de l'hélium décrit par *U. Fano* [89] (voir aussi annexe). Ce modèle a été depuis étendu à d'autres systèmes et est connu sous le nom de modèle de Fano [90–92]. Les notations utilisées sont les mêmes que Fano.  $|\varphi\rangle$  et  $|\psi\rangle$  sont les vecteurs propres du Hamiltonien d'interaction se référant respectivement au continuum d'états et à l'état isolé, l'état plasmon polariton de surface. En présentant le phénomène de la manière suivante, la transmission du système peut être écrite par

$$T = \alpha \frac{(q + \epsilon)^2}{1 + \epsilon^2}, \quad (3.1)$$

où  $\alpha$  est une constante de normalisation ajoutée ici pour correspondre aux données expérimentales,  $q^2$  est le rapport des transitions de probabilité entre les états discrets et les états du continuum qui n'interagissent pas ; il n'est pas considéré comme constant ici mais ne dépend

pas de  $E$ . Enfin  $\epsilon$  est l'énergie réduite

$$\epsilon = \frac{E - E_\varphi - \Gamma}{\pi V_E^2} \quad (3.2)$$

où  $E_\varphi$  est l'énergie du niveau plasmon polariton,  $\Gamma$  est un paramètre du modèle dépendant de  $E$ , et  $V_E$  un élément de la matrice d'interaction, i.e. l'énergie d'interaction entre le niveau plasmon et un niveau du continuum

$$V_E = \langle \psi | H | \varphi \rangle. \quad (3.3)$$

La complexité de ce modèle vient du fait que  $\Gamma$ , qui est en fait la transformée de Hilbert de  $V_E$ , et  $V_E$  ne sont pas aisément évaluables. Il est à noter qu'une approximation commune dans l'application du modèle de Fano[89–92], est de considérer  $\Gamma$  comme constant. Dans le cas de la modélisation de Fano des plasmons polaritons de surface, il ne semble y avoir aucun critère pour considérer  $\Gamma$  ou  $V_E$  constants.

Les résultats expérimentaux donnent accès à la transmission  $T$ .  $V_E$  peut ainsi être directement extrait. La formule de  $T$  est ainsi développée en série de  $\epsilon$ , et  $\epsilon$  est développé selon des polynômes de Legendre :

$$T = \alpha \sum_{n=0}^{\infty} (-1)^n (q\epsilon^{2n} + \epsilon^{2n+2}), \quad (3.4)$$

et

$$\epsilon = \sum_{n=0}^{\infty} \beta_n P_n(E), \quad (3.5)$$

avec  $\beta_n = \frac{2n+1}{2} \int_{0,1}^2 dx \epsilon(x) P_n(x)$  et

$$(n+1) P_{n+1}(x) = (2n+1)xP_n(x) - nP_{n-1}(x). \quad (3.6)$$

Ces polynômes furent choisis, car  $\epsilon$  est borné, de plus ils convergent vite, et comme les résonances sont loin des bords les aberrations de convergence sur les bords sont négligeables. Avec cette procédure, il faut résoudre un problème simple ayant beaucoup de variables. Une méthode inspirée de la programmation en éléments finis peut être utilisée. Ainsi pour chaque ordre en  $\epsilon$  un algorithme de gradients préconditionnés et conjugués (Preconditioned Conjugate Gradients) récupérait les coefficients principaux, ensuite ces coefficients étaient introduits dans un programme combinant un Trust-Region Methods for Nonlinear Minimization et un Nonlinear Least-Squares méthode (deux méthodes tirées de Matlab) permettant ainsi une extraction de tous les coefficients. Voici quelques exemples de résultats pour les ronds et

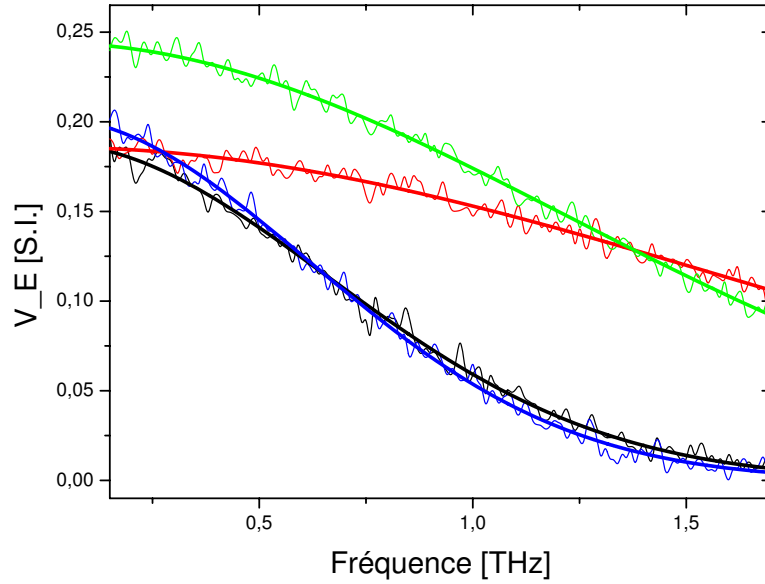


FIG. 3.5 – Représentation de  $V_E$  en fonction de la fréquence (c'est-à-dire de l'énergie) pour des réseaux de trous carrés et de trous ronds. Les carrés de  $250 \mu\text{m}$  sont en rouge et les carrés de  $170 \mu\text{m}$  sont en vert. Les ronds de  $250 \mu\text{m}$  sont en noir et les carrés de  $230 \mu\text{m}$ . La période des trous sur la plaque est de  $400 \mu\text{m}$ .

les carrés (figure 3.5). Les courbes oscillantes sont le résultat du programme. Une remarque peut aussi être faite :  $q$  est un des paramètres du modèle, et il reste constant sur l'ensemble du spectre. Ceci traduit que la probabilité de transition entre la partie du continuum qui n'interagit pas et  $|\varphi\rangle$  est constante.

De plus il est apparu que  $V_E$  était modélisable. Le Hamiltonien  $H$  est approximé par celui de l'oscillateur harmonique [23; 24; 93] (développement parabolique).  $|\varphi\rangle$  est supposé être un vecteur propre de cet Hamiltonien. Enfin l'expression de  $|\psi\rangle$  est approximé par celle d'une onde plane. Il est à noter que  $|\psi\rangle$  n'est plus un vecteur propre de  $H$ , ceci est considéré comme une déviation acceptable du modèle de Fano. En approximant l'expression de  $|\varphi\rangle$  par son enveloppe gaussienne de préfacteur  $B$ , et en pseudo normant l'expression de  $|\psi\rangle$  par le facteur  $A$ , le terme  $\langle\psi|H|\varphi\rangle$  devient :  $V_E = A \exp(-BE^2)$ . Sur la figure précédente, les courbes issues de cette formule sont superposées aux courbes d'extraction par le programme. Cependant le modèle échoue quand  $E \rightarrow 0$ , car s'il n'y a pas d'énergie qui traverse le système il ne peut y avoir d'interaction. Ainsi  $V_E = 0$  quand  $E = 0$ . Le modèle échoue aussi pour de grandes valeurs de  $E$ , car expérimentalement, les résonances d'ordres élevés n'apparaissent pas sur le

spectre.

Un des points intéressant est que maintenant une partie de la physique du problème est placée dans les facteurs  $A$  et  $B$ . Sur la figure 3.6 est présentée leur évolution en fonction de la forme du trou.  $A$  peut être interprété comme la force de l'interaction, et  $B$  comme le domaine du continuum où l'interaction avec le niveau isolé est conséquent. A mesure que la taille des trous diminue les plasmons polaritons de surface sont la principale source de transmission, donc  $A$  et  $B$  deviennent plus grand afin de réduire le domaine d'intégration avec le continuum. Enfin les paramètres  $A$  et  $B$  tendent vers des valeurs limites correspondant à celle des ronds pour des nombre de côtés augmentant.

### 3.3.3 Conclusion

Le modèle de Fano est intéressant car il permet de décrire le phénomène de transmission anormale sans résolution de l'équation de Maxwell. De plus, en considérant le modèle de Fano complet (sans approximation sur  $V_E$ ), les courbes expérimentales permettent d'extraire le potentiel d'interaction des plasmons polaritons de surface  $V_E$ . Ce potentiel peut être évalué en faisant une approximation parabolique du Hamiltonien  $H$ .

## 3.4 Interaction entre plasmons polaritons

La possibilité de faire interagir des plasmons polaritons entre eux est envisagée ici [94]. La première constatation vient du fait que le spectre de transmission d'une plaque ayant un réseau de carré n'est pas sensible au sens de la polarisation. Il n'y a ni modification de l'énergie transmise ni déplacement de la fréquence de résonance. Ainsi les phénomènes de déplacement de résonance ne peuvent pas être toujours imputés aux interactions avec la forme des trous : pour un réseau d'ellipses toutes orientées dans le même sens, la transmission est sensible en  $\cos(\theta)$  mais avec une conservation de la forme du spectre et aucun déplacement des fréquences de résonance.

Dans cette partie, il sera montré que la nature des plasmons polaritons de surface sur la plaque peut être changée par la polarisation de l'onde incidente.

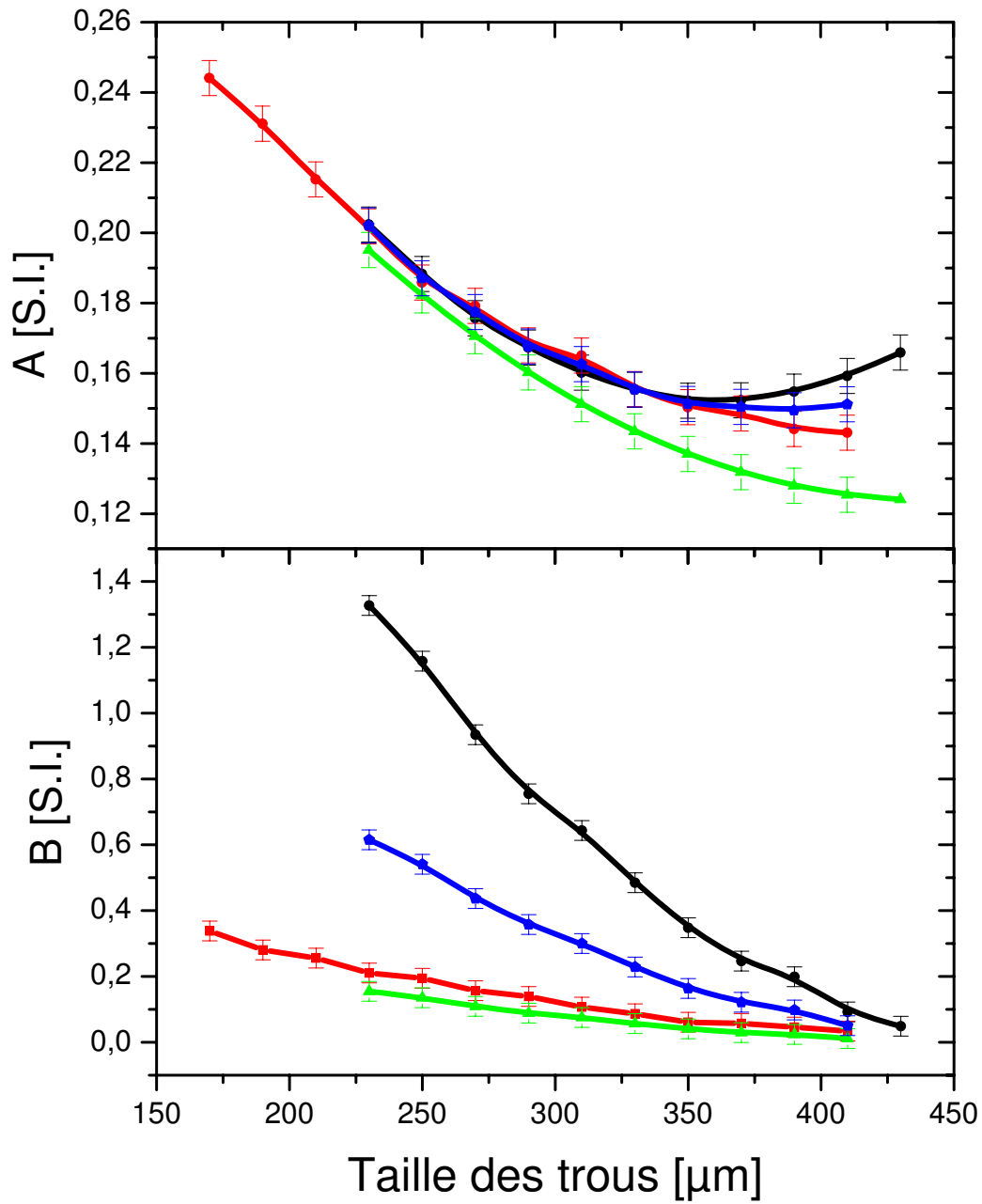


FIG. 3.6 – Évolution des paramètres A et B en fonction de la taille des trous avec en noir les ronds, en rouge les carrés, en vert les triangles et en bleu les pentagones.

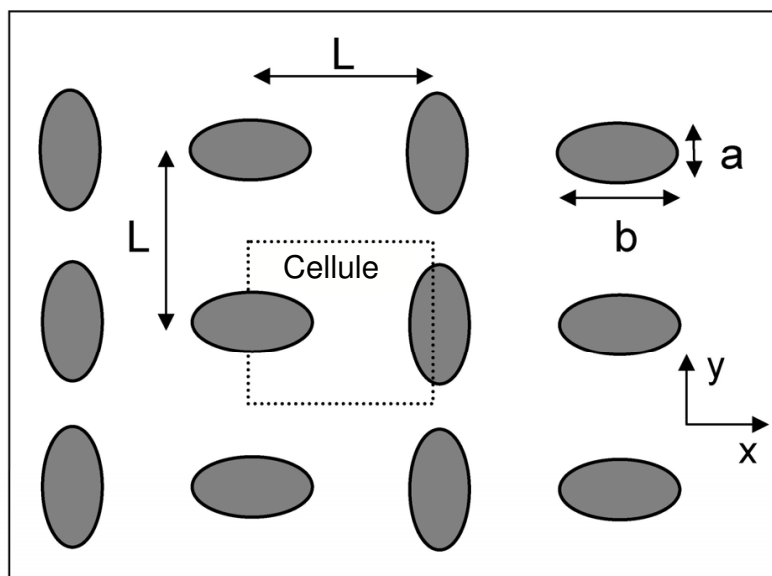


FIG. 3.7 – Représentation du motif d'ellipses alternées sur la plaque de nickel.

### 3.4.1 L'expérience

Des plaques de  $18 \mu\text{m}$  d'épaisseur en nickel ont été fabriquées par électrodéposition, avec un motif d'ellipses de grands axes adjacents tournés de  $90^\circ$  (figure 3.7). Le réseau a une période de  $L=600 \mu\text{m}$ , un grand axe  $b=400 \mu\text{m}$ , un petit axe  $a=200 \mu\text{m}$  et la précision des figures dépasse le micron. Il y a deux sous réseaux de période  $2L$  selon  $y$  et de période  $L$  selon  $x$ . La rotation de la plaque est assurée par une monture aimantée, autorisant ainsi la plaque à se mouvoir dans le vide, c'est-à-dire sans la mettre sur un substrat. La spectroscopie classique de la transmission de cette plaque est effectuée, le temps de mesure est de  $150 \text{ ps}$ , ce qui correspond à une précision fréquentielle de  $8 \text{ GHz}$ , et chaque mesure est divisée par une référence prise sans plaque.

La figure 3.8 montre des spectres caractéristiques obtenus.

Les spectres ont une résonance majeure entre  $0.4 \text{ THz}$  et  $0.5 \text{ THz}$  suivie d'une résonance beaucoup plus large, ressemblant par ailleurs à une sorte de continuum. Mais surtout, il y a un changement de fréquence de résonance avec le changement d'angle de la polarisation incidente. Le déplacement fréquentiel entre l'angle de polarisation  $0^\circ$  et l'angle  $45^\circ$  est de  $40 \text{ GHz}$ . Il est de plus symétrique par rapport à la bissectrice des grands axes des ellipses. Aucune des fréquences de résonance ne correspond aux valeurs classiques suivant la loi  $\nu(i, j) = \frac{c}{L} \sqrt{i^2 + j^2}$  où  $i$  et  $j$  sont des nombres entiers positifs, de plus ces fréquences de résonance ne peuvent



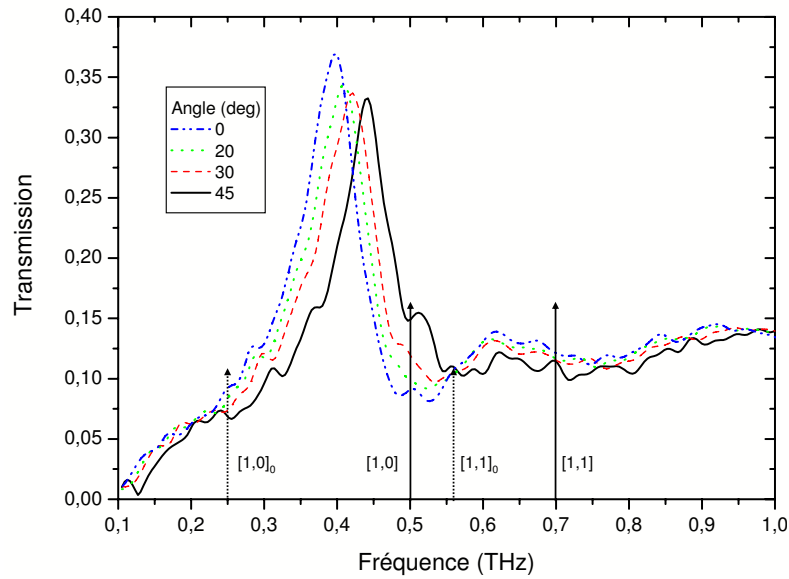


FIG. 3.8 – Évolution du spectre transmis à travers la plaque en fonction de la fréquence du rayonnement et en fonctions de différents angles de polarisation.

correspondre à celles d'un des sous réseaux  $\nu(i, j) = \frac{c}{2L} \sqrt{4i^2 + j^2}$ . Sur la figure 3.8 les positions des premières fréquences de résonance pour le réseau complet (entre crochets normaux) et pour les sous réseaux (entre crochets avec un indice 0).

Les résultats précédents vont être expliqués par deux méthodes, une modélisation numérique et un modèle utilisant un modèle de Fano avec interactions.

### 3.4.2 La modélisation numérique

Pour avoir une idée plus précise du phénomène physique, la propagation du faisceau à travers la plaque a été simulée par éléments finis [94]. La seule spécificité de la programmation dans ce cas, fut que pour éviter une explosion de temps de calcul, la taille de la boîte de calcul a été réduite à la petite zone appelée cellule élémentaire. Ainsi, pour simuler tous les effets de la plaque, il a suffi de faire la simulation suivant deux axes de polarisation (selon  $x$  et  $y$ ), en adaptant les symétries sur les bords de la boîte, afin que perpendiculairement à la direction de polarisation il y ait toujours un miroir électrique. De plus, afin d'être le plus précis possible, et de profiter de la petite taille de la boîte de simulation, le maillage fut conçu de sorte à avoir une dimension caractéristique de  $\lambda/700$  dans les trous et de  $\lambda/5$  dans les parties de propagation libre. Finalement, les propriétés diélectriques et magnétiques de la plaque ont été

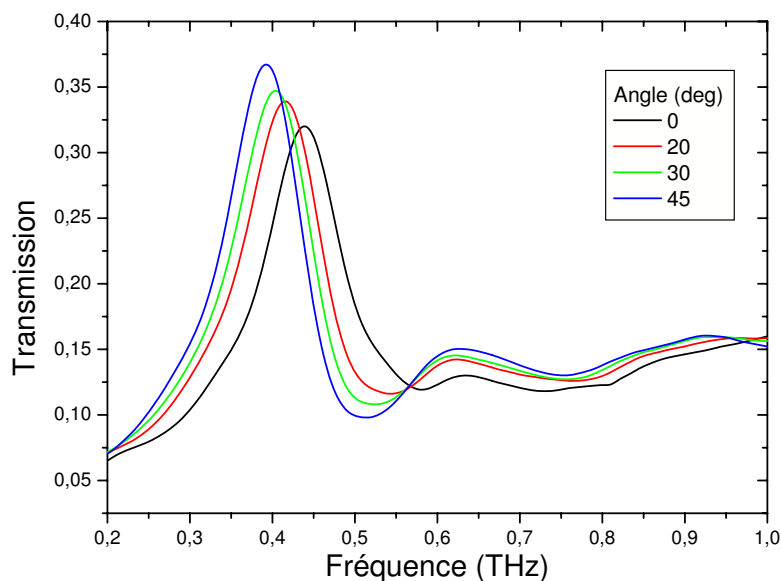


FIG. 3.9 – Simulation de l'évolution des spectres transmis à travers la plaque en fonction de la fréquence du rayonnement et en fonction de différents angles de polarisation.

ajoutées : la plaque a donc une permittivité  $\epsilon = -9.7 \times 10^3 + 1.1 \times 10^5 i$  et une perméabilité relative de 100, dans le système d'unité gaussienne.

La transmission et le champ à la surface de la plaque ont donc été calculés en fonction de l'angle de polarisation de l'onde incidente (figure 3.9). Il y a une très bonne correspondance avec les spectres expérimentaux. Ceci motiva donc un approfondissement de la simulation : le champ électrique à la surface du métal à 0.44 THz fut étudié pour différents angles de polarisation (figure 3.10).

Pour un angle de  $45^\circ$ , il y a une quasi équipartition du champ entre les deux trous, avec une légère "favorisation" pour l'ellipse de grand axe parallèle à  $x$ , due à l'anisotropie du réseau. Cependant un très notable changement de répartition de champ pour les angles de  $30^\circ$  et de  $60^\circ$  peut être noté. Pour une polarisation de  $30^\circ$ , l'énergie se concentre sur l'ellipse  $x$  alors que pour  $60^\circ$  c'est l'ellipse  $y$  qui récupère l'énergie. Il y a un véritable contrôle de l'état du plasmon polariton de surface par la polarisation de l'onde incidente. Enfin, le champ électrique à la surface de la plaque fut calculé pour une simple superposition linéaire des deux sous réseaux. Il apparaît de façon claire que le phénomène physique sur la plaque n'est pas une simple superposition linéaire des effets des deux sous réseaux.

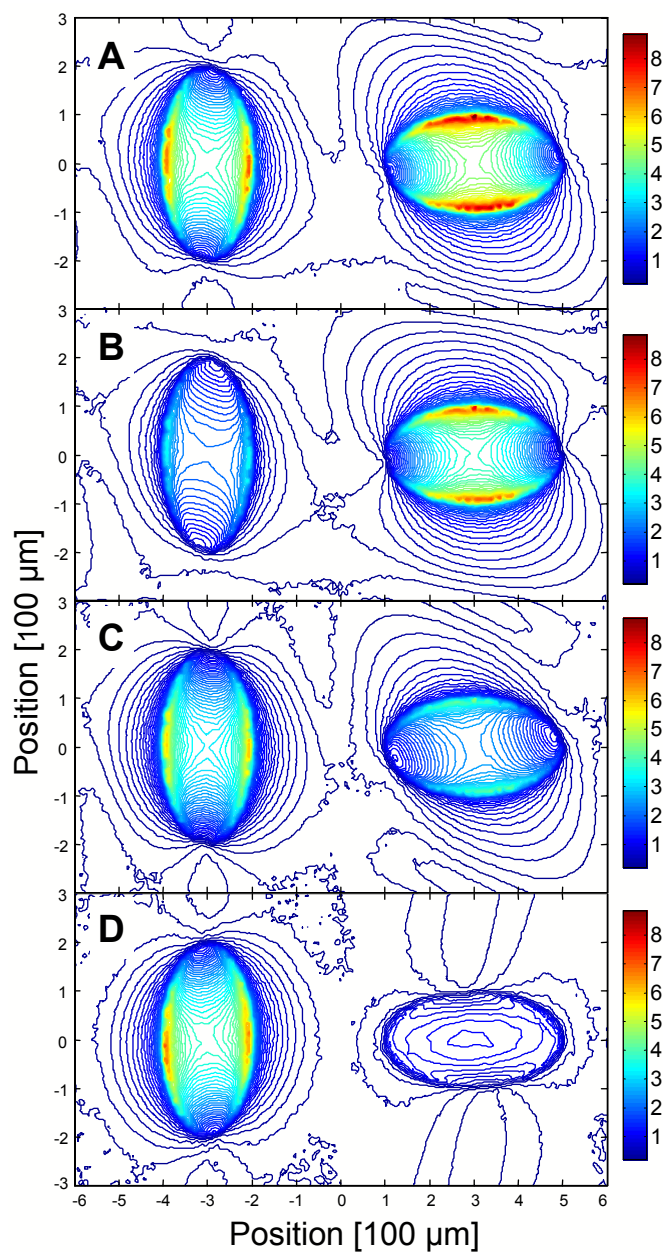


FIG. 3.10 – Représentation de la valeur moyenne de la norme du champ électrique à la surface du métal à 0.44 THz pour différentes polarisations :  $45^\circ$ (A),  $30^\circ$ (B),  $60^\circ$ (C), et représentation de la différence entre le champ électrique du réseau total et la somme des champs électriques des deux sous réseaux à  $45^\circ$ (D)

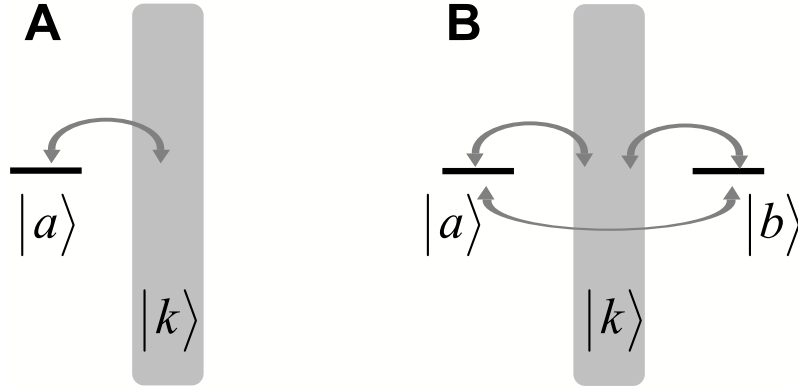


FIG. 3.11 – Représentation du modèle de Fano appliqué à un sous réseau et au réseau total. Les vecteurs propres sont représentés et les flèches désignent les interactions.

### 3.4.3 Le modèle

Le modèle se base sur la description des interactions entre les deux sous réseaux. La transmission de chaque sous réseau peut être décrite par le modèle de transmission de Fano [89] présenté précédemment. Pour un des sous réseaux, un couplage entre un continuum d'état  $|k\rangle$  et un état résonant  $|a\rangle$  de fréquence  $\nu_o=0.25$  THz est considéré. Le réseau total va être décrit comme un continuum interagissant avec deux niveaux (correspondant à chaque sous réseau) de même fréquence qui peuvent aussi interagir entre eux (figure 3.11).

Lorsque les deux sous réseaux sont identiques, les résultats du modèle de Fano direct avec un pas de réseau de taille moitié et une fréquence de résonance  $2\nu_o$  doivent être retrouvés. Il y a deux ordres d'interaction, soit direct entre  $|a\rangle$  et  $|b\rangle$  soit indirect avec des couplages avec le continuum  $|k\rangle$ . Le Hamiltonien d'interaction qui en résulte au premier et au second ordre prend alors la forme [23; 24] :

$$\langle b|W|a\rangle = hA \sin(2\theta), \quad (3.7)$$

et

$$\sum_{k \neq a,b} \frac{\langle b|W|k\rangle \langle k|W|a\rangle}{E_o - E_k} = ihB, \quad (3.8)$$

où  $W$  est la matrice de couplage,  $A$  et  $B$  des constantes de couplage, et  $E_o = h\nu_o$ . L'interaction directe entre  $|a\rangle$  et  $|b\rangle$  est sensible à la polarisation car chaque sous réseau est dépendant pour sa transmission de la polarisation. Le terme  $\sin(2\theta)$  vient de la symétrie par les bissectrices des grands et petits axes des ellipses. De plus, le terme complexe de l'interaction indirecte vient du déphasage de  $\pi/2$  entre les amplitudes d'interaction entre celles de premier et de

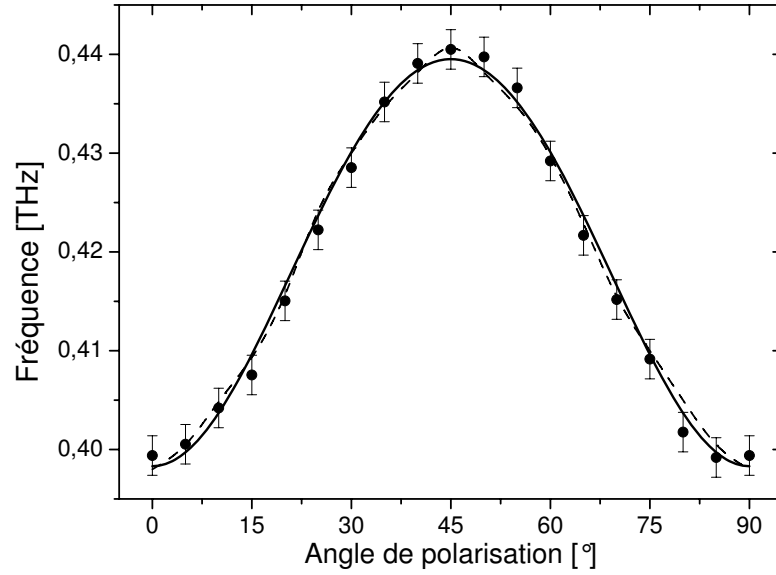


FIG. 3.12 – Déplacement de la fréquence de résonance en fonction de l'angle de polarisation : les données expérimentales sont représentés par les points, la ligne continue représente le modèle, et la ligne en pointillés représente les fréquences de résonance déduites de la simulation en éléments finis.

second ordre.

Le Hamiltonien global a donc la forme suivante

$$H = \begin{pmatrix} h\nu_o & hA \sin(2\theta) + ihB \\ hA \sin(2\theta) - ihB & h\nu_o \end{pmatrix} \quad (3.9)$$

Les valeurs propres de cet Hamiltonien sont donc :

$$\nu_{\pm} = \nu_o \pm \sqrt{\frac{1}{2}A^2(1 - \cos(4\theta)) + B^2}. \quad (3.10)$$

La dégénérescence à 0.25 THz a été levée avec un déplacement vers le bleu  $\nu_+$  et un déplacement vers le rouge  $\nu_-$ . En prenant comme valeur  $A=0.117$  THz et  $B=0.15$  THz, les résultats expérimentaux sont reproduits sur la figure 3.12.

Avec ces valeurs de constantes le niveau déplacé vers le rouge est en dessous de 0.1 THz et est donc indétectable par le système. De plus la courbe à 0.5 THz présente un intérêt particulier car elle passe d'un maximum à un minimum. En faisant correspondre aux courbes leur forme de Fano, le résultat est exposé sur la figure 3.13. La correspondance avec les courbes expérimentales est très bonne [94].

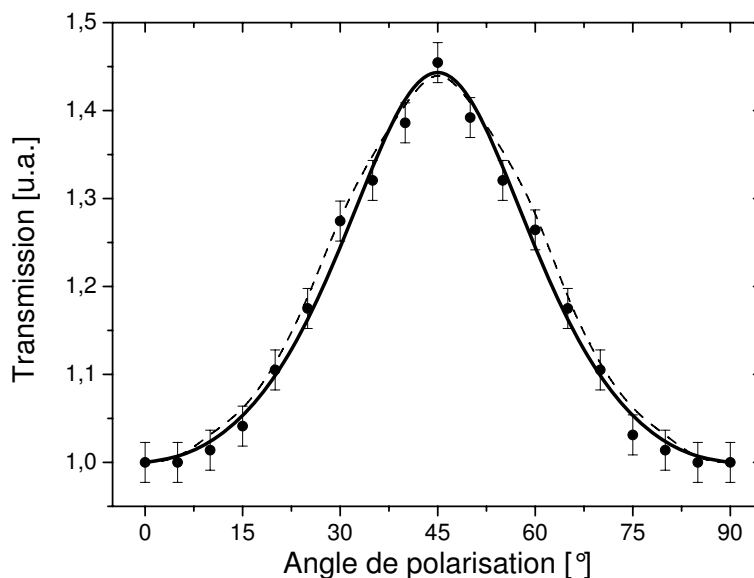


FIG. 3.13 – Évolution de l’amplitude du signal térahertz à 0.5 THz : les données expérimentales sont représentées par les points, la ligne continue représente le modèle, et la ligne en pointillé donne les amplitudes déduites de la simulation en éléments finis.

### 3.4.4 Conclusion

Le motif de cette plaque a montré que la nature des plasmons polaritons de surface pouvait être modifiée par l’angle de polarisation de la lumière incidente. De plus, ceci montre qu’il y a plus, dans les modifications de forme ou de fréquence de résonance, que de simples effets de bords sur les trous. Enfin la méthodologie employée montre que des résultats complexes sur les réseaux de trous peuvent être trouvés par de simples décompositions en sous réseaux.

## 3.5 Transition de phase de plasmon polaritons de surface

### 3.5.1 Cas limites

Il est utile ici, afin de comprendre les motivations qui furent la source des expériences, de présenter des cas limites. La transmission anormale a été observée pour des réseaux de trous carrés. Si la taille des trous tendait vers 0, alors la transmission ne serait effectuée que par le plasmon polariton de surface [65], car aucune lumière ne pourrait être transmise directement. Cependant, si la taille des trous atteignait la limite pour laquelle il ne resterait

plus qu'une ligne d'atomes, tout en conservant des trous de taille inférieure à la longueur d'onde, il apparaît comme clair qu'il ne pourrait y avoir génération de plasmons polaritons de surface ni d'autres phénomènes résonants. De même, pour générer un plasmon polariton de surface, un réseau de lignes métalliques parallèles peut être utilisé. Si les espaces libres tendent vers 0, alors là encore seul le plasmon polariton de surface permettra la transmission de la lumière, alors que si les lignes métalliques deviennent très fines la plaque deviendra un polariseur [11]. Ces deux couples de cas limites montrent qu'il semble y avoir au moins deux types de phénomènes physiques très différents qui peuvent avoir lieu sur ces plaques.

### 3.5.2 Les expériences

L'expérimentation fut assez classique [95]. Les spectres de transmission de séries de plaques ont été mesurés avec une très grande précision. Leur période fut de  $L=600 \mu\text{m}$ . Les plaques furent percées de trous carrés et ronds sur un large domaine de tailles. De plus, afin d'étudier les plasmons polaritons unidimensionnels, les spectres transmis pour des réseaux de lignes de période  $L=400 \mu\text{m}$ , dont la largeur a évolué, de la même manière que précédemment, ont été mesurés. Les variables qui vont être utiles pour décrire les systèmes sont :

- le facteur de remplissage  $P$  défini comme le rapport de surface de métal sur la surface de trou. Ainsi une plaque de petit  $P$  sera une plaque avec de grands trous et une plaque de grand  $P$  sera une plaque de petits trous, donc une plaque où le rayonnement passe principalement par le plasmon polariton de surface. Le choix de  $P$  est faite par une analogie avec la thermodynamique,
- le décalage  $\Delta\nu$  de la fréquence de résonance par rapport à la valeur prédite par la théorie des ondes de Bloch (il y a là un abus de langage car dans le cas des fentes métalliques, c'est la fréquence du minimum de transmission dont l'évolution est étudiée; elle se rapproche d'une anomalie de Rayleigh),
- l'énergie retenue par la plaque  $U$  c'est à dire 1 moins l'énergie détectée (normée à une référence),
- le facteur  $C$  qui est la dérivée de l'énergie retenue par le facteur de remplissage.

Sur la figure 3.14 un résumé de ce qui a été fait, ainsi que des spectre types détectés, sont exposés.

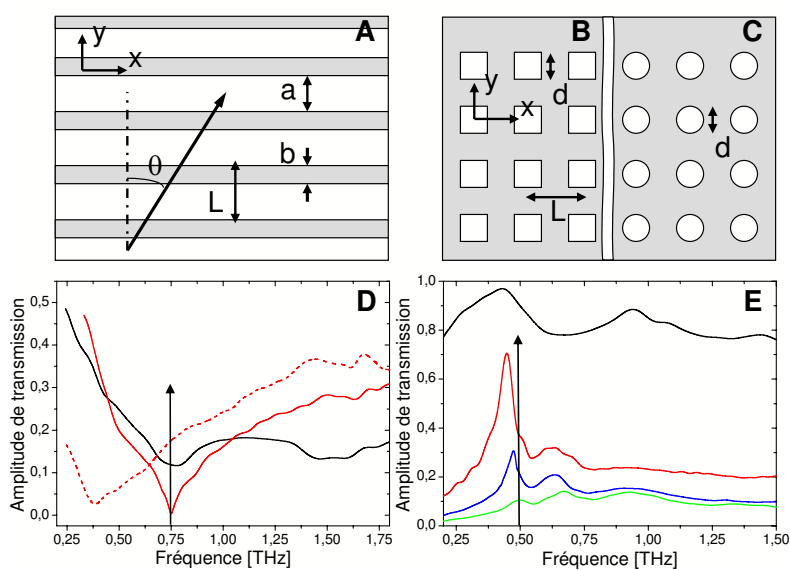


FIG. 3.14 – Les différentes plaques sont représentées sur les figures **A**, **B**, **C**. Quelques courbes expérimentales sont représentées : **D** pour les plasmons 1D avec  $P=1.5$  pour la ligne noire,  $P=1.67$  pour  $\theta = 0^\circ$  la ligne rouge et pour  $\theta = 80^\circ$  la ligne rouge pointillée, et **E** pour les plasmons 2D avec un réseau carré de  $P=0.78$  pour ligne noire,  $P=3.3$  pour la ligne verte,  $P=7.2$  pour la ligne bleue,  $P=9$  pour la ligne rouge. Enfin les flèches indiquent les valeurs théoriques des fréquences de résonance par le modèle des modes de Bloch.



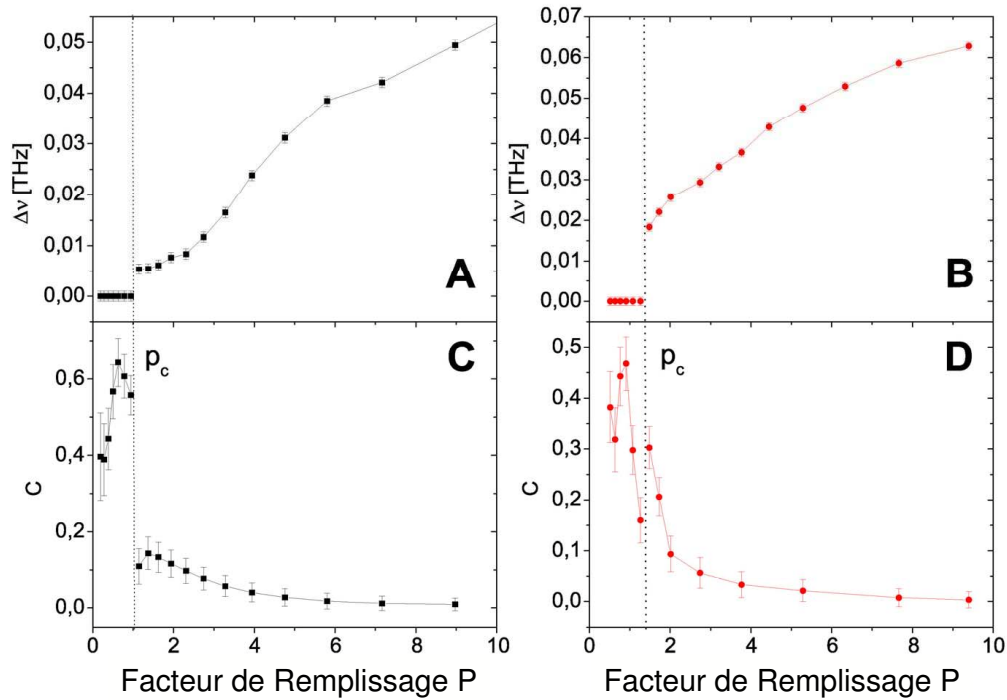


FIG. 3.15 – Évolution de  $\Delta\nu$  et de  $C$  en fonction de  $P$  pour des carrés (A,C) et pour des ronds (B,D).

### 3.5.3 Les premières bases du modèle

#### Les plasmons polaritons de surface sur réseau de trous carrés et ronds

Quelques données obtenues sont présentées par la figure 3.15. Bien au delà de l'intérêt de l'étude de l'évolution de ces courbes, les courbes de fréquence de résonance et les courbes du facteur  $C$  présentent une discontinuité à la même valeur de  $P$ . Il est bon de rappeler ici que cette très surprenante découverte fut vérifiée expérimentalement avec la plus grande précaution. La première conséquence est que des théories purement linéaires, expliquant la transmission, ne peuvent s'appliquer, car une théorie linéaire ne peut produire de discontinuité. Ce problème va donc être abordée de manière moins classique.

D'une certaine manière, une boîte noire [96; 97] est placée autour du système afin de se détacher des détails du problème. Les résultats expérimentaux [95] montrent qu'un paramètre ( $\Delta\nu$ ) permettant de décrire l'état du système (qui est une fonction de  $P$ ), et que la dérivée de l'énergie par rapport à un facteur géométrique ( $P$ ) présentent pour la même valeur de  $P=P_c$  une franche discontinuité. Un parallèle peut être tracé avec une expérience d'évolution de

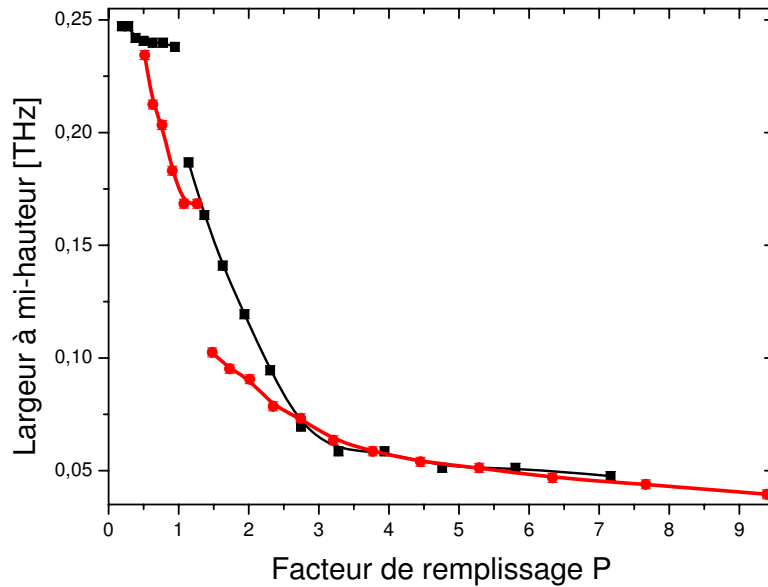


FIG. 3.16 – Évolution de la largeur à mi-hauteur de la résonance en fonction du facteur de remplissage, avec en noir les carrés et en rouge les ronds.

la magnétisation d'un matériau avec la température et sous un champ magnétique  $H$  : cette évolution verra la magnétisation  $M$  présenter une discontinuité à une certaine température  $T_c$  et à cette même température la capacité calorifique du matériau présentera aussi une discontinuité. Le parallèle dévoile immédiatement que ces deux discontinuités sont la manifestation directe d'une transition de phase de premier ordre [8; 97–99] (voir aussi annexe). Il est à noter de plus que la valeur de  $P$  pour la transition est sensible à la forme des trous :  $P_c = 1.03 \pm 0.01$  pour les carrés et  $P_c = 1.37 \pm 0.01$  pour les ronds.

De plus, il est notable que la largeur spectrale à mi-hauteur de la résonance subit aussi une discontinuité à la même valeur de facteur de remplissage critique (figure 3.16).

Finalement, il est tout à fait remarquable qu'en dessous de la valeur critique du facteur de remplissage  $P_c$  l'aspect du spectre ne soit plus du tout celui d'un plasmon polariton de surface (figure 3.14D et E). Les résonances sont séparées de facteur entier, ce qui est par ailleurs étrange, car c'est ce qui serait attendu pour un réseau unidimensionnel. De plus, les résonances sont beaucoup moins dissymétriques. Ceci sera commenté de manière plus ample dans la partie concernant le modèle complet.

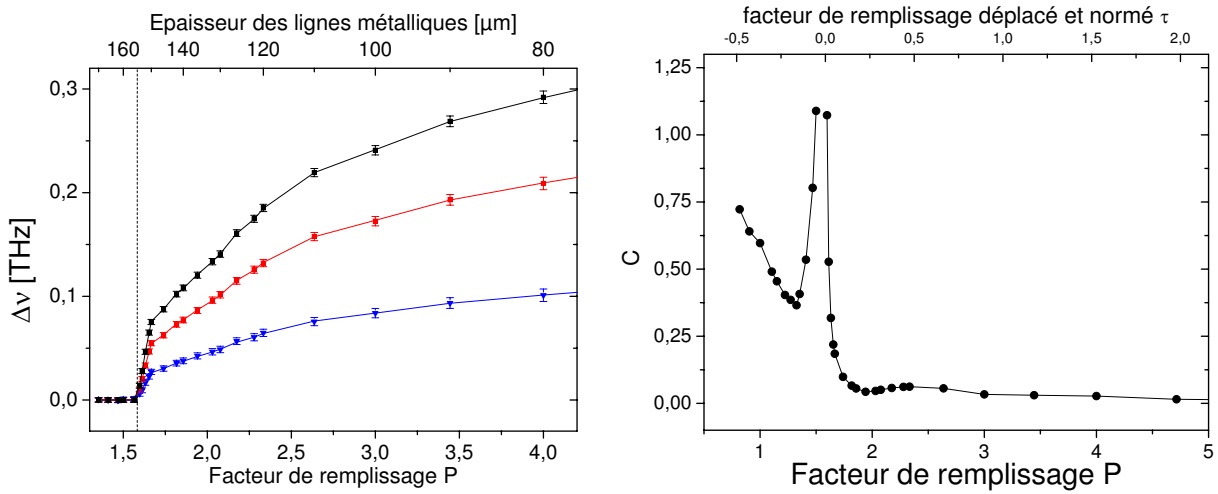


FIG. 3.17 – Représentation de l'évolution de  $\Delta\nu$  et de  $P$  en fonction du facteur de remplissage  $P$ . La première courbe donne l'évolution de  $\Delta\nu$  pour  $\theta = 80^\circ$  (en noir), pour  $\theta = 45^\circ$  en rouge et pour  $\theta = 20^\circ$  (en bleu). La seconde courbe donne l'évolution de  $C$ .

### Les plasmons polaritons de surface sur réseau de fentes métalliques

De la même manière, voici les données qui sont intéressantes [95] (figure 3.17). La première constatation est que toutes les courbes d'évolution du déplacement de la fréquence  $\Delta\nu$  en fonction de l'angle ( $\theta$ ) de polarisation du rayonnement incident, suivent une évolution en  $\sin(\theta)$  (figure 3.18) à partir d'une certaine valeur du facteur de remplissage.

Ceci n'est pas surprenant car selon l'axe de la polarisation du champ électrique le pas du réseau est de plus en plus grand et ainsi la fréquence  $\Delta\nu$  se déplace. Donc  $\Delta\nu$  peut être décomposé de la sorte :

$$\Delta\nu = A(P) \sin(\theta - \theta_o), \quad (3.11)$$

avec  $A$  une fonction exclusive de  $P$  et  $\theta_o$  un facteur angulaire lié aux erreurs expérimentales de positionnement des plaques.

Là encore les résultats invitent à une interprétation inhabituelle [95]. A partir d'une valeur du facteur de remplissage, à savoir  $P_c = 1.583 \pm 0.005$ , une dépendance angulaire de la fréquence  $\Delta\nu$  du plasmon polariton apparaît. Avant cette valeur, la résonance n'était due qu'à un effet de masque et la transmission de la plaque était celle d'un polariseur. La forme du spectre était préservée, seule son intensité présentait une dépendance en  $\cos(\theta)$ . Le système a donc présenté une brisure spontanée de la symétrie de rotation à une certaine valeur de  $P$ , du point de vue de la conservation de la forme du spectre. Il est notable que, si le système est

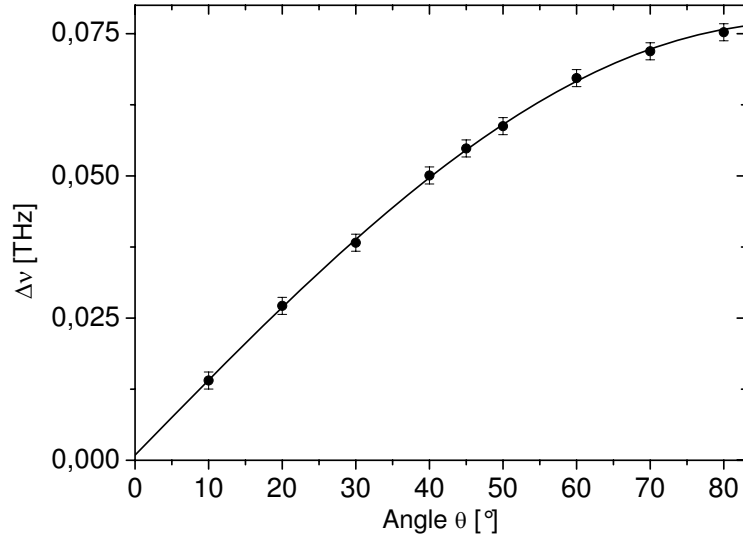


FIG. 3.18 – Évolution de  $\Delta\nu$  en fonction de  $\theta$ . Les points représentent les résultats expérimentaux. La ligne noire représente la fonction  $\sin(\theta - \theta_0)$ .

supposé de taille infinie (ce qui est quasiment vrai lors des expériences car il n'y a pas d'effets de bords), le groupe ponctuel qui conserve la forme du spectre pour  $P < P_c$  est  $D_{2\infty}$  et celui pour  $P > P_c$  est  $D_{2h}$ . De plus le déplacement de la fréquence de résonance  $\Delta\nu$  et le facteur  $C$  présentent, à proximité de  $P_c$ , une évolution en loi de puissance, ceci étant clairement visible par des droites en échelle log-log (figure 3.19).

Le parallèle utilisé précédemment peut être repris. Cette expérience présente des similarités avec un aimant placé dans une zone de champ magnétique  $H$  nul dont la température est modifiée. En dessous d'une certaine température, le matériau va voir son aimantation devenir permanente, ainsi l'aimantation  $M$  va passer spontanément et continûment d'une valeur nulle à une valeur fixe, brisant la symétrie du matériau. De plus, à proximité de cette température  $T_c$ , la capacité calorifique du matériau et  $M$  présenteront une évolution en loi de puissance.

Ces caractéristiques sont donc la manifestation, habituelle et moderne, de la transition de phase de second ordre [8; 97–100] (voir aussi annexe). Il est alors possible d'écrire

$$\Delta\nu = A_o \left( \frac{P - P_c}{P_c} \right)^\beta \sin(\theta), \quad (3.12)$$

ainsi que pour  $P < P_c$ ,

$$C = B \left( \frac{P - P_c}{P_c} \right)^{\alpha_-}, \quad (3.13)$$

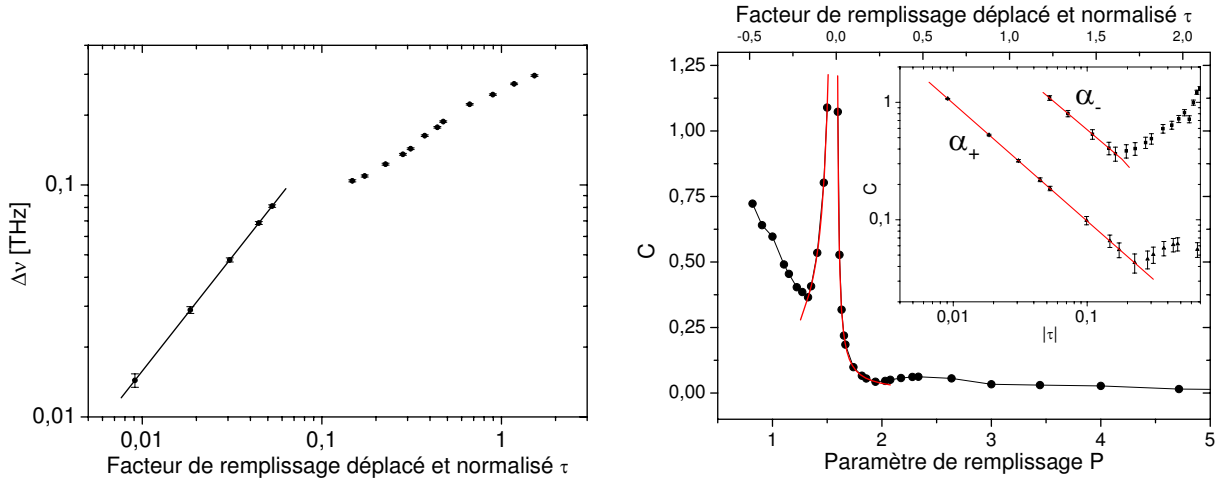


FIG. 3.19 – Évolution de  $\Delta\nu$  et de  $C$  en fonction du facteur de remplissage déplacé et normalisé  $\tau = \frac{P-P_c}{P_c}$ . La représentation est faite en échelle "log-log". La ligne noire du premier graphe et la ligne rouge du second graphe représentent les parties modélisées en loi de puissance.

et pour  $P > P_c$

$$C = B \left( \frac{P - P_c}{P_c} \right)^{\alpha_+} \quad (3.14)$$

avec  $A_o$  et  $B$  des constantes. Les exposants ont pour valeur  $\beta=0.98 \pm 0.04$ ,  $\alpha_-=-0.97 \pm 0.08$  et  $\alpha_+=-0.99 \pm 0.08$ . Une précision doit être faite sur un possible abus : le système semble être ici à une dimension, et ce n'est évidemment pas le cas. Le réseau apparaît, par rapport à la polarisation, comme étant à une dimension, le système est en fait tridimensionnel, avec une forte bidirectionnalité. Cette remarque vient du fait qu'il n'existe pas de transition de phase du second ordre observable dans la réalité dans les systèmes unidimensionnels, par ailleurs je pense que même théoriquement, elles n'existent pas dans les systèmes unidimensionnels sauf à 0K.

### 3.5.4 Le modèle

Le voile noir posé sur le système a suscité une voie de modélisation très liée à la physique statistique [95] (voir aussi annexe). Il faut maintenant, pour être cohérent, décrire les deux expériences précédentes sous un même modèle.

Il faut pour cela reconstruire la manière de voir ce système afin de faire mieux correspondre les nouveaux concepts employés. Les paramètres peuvent maintenant être redéfinis de manière plus directe :

- le facteur de remplissage  $P$  devient la température  $T$  ;
- l'énergie retenue  $U$  devient l'énergie interne ;
- le facteur  $C$  devient la capacité calorifique ;
- enfin le décalage de fréquence  $\Delta\nu$  devient un paramètre d'ordre.

Il est clair qu'il y a un côté arbitraire à nommer ces paramètres de la sorte, mais *a priori* c'est un droit du modélisateur, afin d'appuyer son modèle, de nommer les paramètres ainsi afin de guider sa réflexion.

Il est à noter qu'il est intéressant que la température soit de nature géométrique. Cette dénomination de température est acceptable, car elle traduit à la fois l'état du système, et lorsqu'elle augmente l'énergie interne augmente [8; 25; 96–98; 98–105]. Il apparaît maintenant nécessaire de préciser quelque chose qui ne l'a pas encore été : en physique statistique, une grande attention doit être prêtée à la définition du système. Le système est ainsi constitué des électrons de surface couplés aux photons sur la plaque ainsi que des trous. Il peut être utile de préciser que la géométrie des plaques et l'énergie du faisceau ne permettent pas d'interactions avec les phonons.

Un des éléments qui peut guider l'élaboration du modèle est le concept de classe d'universalité. Lors d'une transition de phase de second ordre, certaines quantités, comme le paramètre d'ordre, la capacité calorifique, les susceptibilités etc., vont avoir un comportement en loi d'échelle [8; 99; 100] qui est caractérisé par leurs exposants respectifs. Ces exposants définissent les classes d'universalité, c'est-à-dire que deux systèmes physiques même infiniment différents, qui ont les mêmes exposants critiques, auront du point de vue des transitions de phase de second ordre qu'ils traversent un comportement équivalent.

Les coefficients extraits des expériences sont ceux d'une transition de phase de percolation (voir annexe). Il y a de nombreux coefficients qui correspondent à des transitions de percolation, suivant la géométrie de positionnement des sites, les conditions aux limites et certaines autres conditions possibles. Cependant, les coefficients trouvés (la capacité calorifique fut décisive) correspondent à des transitions de percolation des arbres de Cayley. De plus, il existe des équivalences complètes entre les systèmes thermiques et les systèmes percolants, offrant ainsi un grand choix de systèmes physiques modélisables durant leur transition de phase par des phénomènes de percolation. Il est à noter aussi que les systèmes percolants subissent aussi des transitions de phase de premier ordre. Enfin, un aspect très intéressant de la modélisation par percolation est que des éléments physiques non calculables ou non évaluables peuvent être

mis dans la probabilité locale de changement d'état.

Le modèle complet va donc être de considérer ce phénomène comme une percolation par lien. La géométrie globale du système définit si la transition est de premier ou de second ordre. Il apparaît alors comme assez concevable que la transition de phase de second ordre se produise sur des systèmes de plasmons, qui pourrait être abusivement appelés 1D car le système est plus contraint de manière géométrique. Il est bon de rappeler que ces transitions n'ont lieu que sur des systèmes où les variables thermodynamiques sont disposées de sorte que la variance du système soit nulle. Dans ce modèle de percolation par lien, les sites seront les électrons et les liens le passage cohérent de la vibration électronique couplée au photon.

Que ce soit pour la transition de premier ou de second ordre, en dessous de  $T_c$ , à mesure que la température augmente il y a une augmentation de la taille des clusters ( au sens de la percolation, c'est-à-dire une augmentation du nombre d'électrons reliés par des liens).

- Pour une transition de phase de premier ordre, à la température  $T_c$ , il y a l'établissement d'un cluster de taille infinie, c'est-à-dire s'étendant d'un bout à l'autre du système (sans nécessairement le recouvrir complètement), avec une probabilité non nulle d'existence. L'établissement de ce cluster nécessite un sur-apport d'énergie, donc une discontinuité de la capacité calorifique.
- Pour une transition de phase de second ordre, à la température  $T_c$ , il y a établissement d'un cluster de taille infinie, de probabilité d'existence nulle, ainsi que des tentatives du système de briser la symétrie.

Le choix entre ces deux transitions est fait par la géométrie globale du système. C'est un aspect très intéressant de cette expérience car c'est la géométrie globale des trous sur la plaque qui va influencer le comportement local des électrons. Ceci se manifestant d'ailleurs pour tous les phénomènes liés à ces plasmons polaritons de surface, pas seulement pour les transitions, car la transmission d'énergie, la forme des spectres, et les fréquences de résonance sont influencées par la forme des trous, la taille de la plaque, l'ordre du réseau sur la plaque. La forme des trous influence même les interactions entre les plasmons polaritons (ce qui fut expliqué plus haut)

Une attention particulière peut être portée sur la différence assez notable de forme des courbes de capacité calorifique à la transition de phase de premier ordre pour les ronds et les carrés. La différence notable vient d'un des aspects multi-échelle du système. Localement, les interactions donnant naissance à la première résonance peuvent être vues d'une certaine

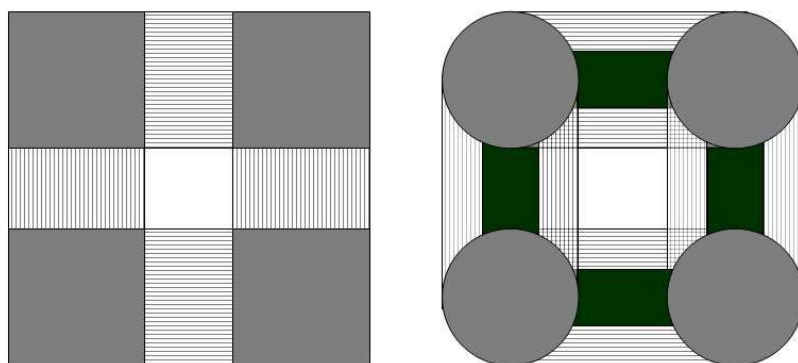


FIG. 3.20 – Dessin montrant en "gris plein" des trous. Les traits représentent les zones théoriques d'interactions concernant la résonance de premier ordre. La zone noire est la zone théorique d'interaction complète pour les ronds. Elle ne recouvre pas entièrement la zone avec les traits car la fréquence du rayonnement ne permet pas l'interaction "complète".

manière sur la figure 3.20. La zone d'interaction pour les trous carrés est de longueur constante alors qu'elle varie pour les trous ronds. Ainsi, la transition de phase est plus franche pour les trous carrés avec une grosse discontinuité et un grand changement de forme de la courbe, alors que pour les trous ronds, la courbe est moins discontinue et la forme plus conservée. Ceci est relié de plus à un concept plus complexe : à la température de transition, seul un système à la limite thermodynamique verra la phase dans laquelle il était disparaître, pour se fondre complètement dans la nouvelle. Dans la pratique, peu de systèmes peuvent être à la limite thermodynamique, il y a alors un transfert incomplet d'une phase à l'autre, donc une coexistence des deux phases et enfin une interface pour les séparer. Dire si le système qui présente des effets à plusieurs échelles, est ou non à la limite thermodynamique, est bien difficile, mais il apparaît comme clair qu'il y a des effets de coexistence de phase pour des trous ronds.

La description adoptée dans cette partie permet ainsi une description globale de ces systèmes de génération de plasmon polariton de surface, en incluant la géométrie comme paramètre global de ce système thermodynamique. Cela offre de plus une nouvelle interprétation de certains phénomènes de plasmons polaritons de surface : ce sont des phases d'électrons de surface couplées à des photons. Il est alors normal de s'intéresser à l'autre phase, celle qui dans les plasmons polaritons 2D et dans les plasmons polaritons 1D, existe à des tempéra-



tures inférieures à  $T_c$ . Ceci n'est pas aisé; a priori, il existe également des ondes de surface qui pourraient être qualifiées de classiques, mais ce n'est pas complètement vrai. Car l'onde est en réalité en partie confinée sur ces parties de métal comprises entre des espaces vides de taille inférieure à la longueur d'onde. Les spectres des trous carrés à  $T < T_c$  montrent bien que le comportement de la plaque est étrange, exhibant des résonances de forme inhabituelle séparées de facteurs entiers. Même le terme "confiner" est peu exact, il faudrait dire partiellement confiné. Le problème vient du flou qui règne autour des conditions aux limites près des trous. De plus, il est étonnant de remarquer que le modèle CDEW permet de reproduire assez bien les spectres obtenus dans cette zone. Cela n'est pas complètement étonnant, car il y a effectivement sur ces plaques un jeu d'ondes évanescentes partiellement confinées, et partiellement diffractées. Cependant, le modèle CDEW a été développé dans l'optique de montrer qu'il n'y avait pas de plasmons polaritons de surface sur tous les domaines de  $T$  possibles.

A travers toute cette partie, une vision liée à la physique statistique a permis de décrire des résultats inhabituels sur les plasmons polaritons de surface. La possibilité de décrire ces phénomènes à travers les équations de Maxwell n'est pas remise en cause. Les résultats expérimentaux remettent cependant en partie en cause les domaines d'applications des différents modèles développés jusqu'à présent. Il est clair qu'il faudra trouver quelles sont exactement les conditions aux limites sur les bords des trous de ces plaques.

### 3.6 Résonance stochastique de plasmon polariton de surface

Dans cette partie, le postulat selon lequel le maximum de signal est obtenu pour un réseau parfaitement ordonné est interrogé. De plus, la publication récente d'un article témoignant des propriétés d'un réseau de trous de taille inférieure à la longueur d'onde disposés selon un pavage de Penrose [106] (structure quasi-périodique) rend ce genre de problématique très intéressante. Il y a un fort désaccord avec à la fois les expériences et les résultats de cet article. Un des éléments avancés dans cet article fournit une justification à l'utilisation dans la suite de ce document de l'énergie totale transmise comme paramètre. Les auteurs remarquent que pour certaines fréquences une plaque, même désordonnée, peut passer plus d'énergie que la surface des trous correspondante. Cependant, ce genre d'effet peut être la conséquence

de structures locales, qui focalisent en partie le rayonnement. Ainsi, il faut en fait prendre l'énergie totale transmise par une plaque, pour s'abstraire de ce genre d'effets locaux. Enfin, le fait d'observer des effets de résonance sur des plaques présentant des structures quasi-périodiques est interprété par les auteurs de l'article comme une conséquence de la nature purement locale de l'interaction entre la lumière et les trous. Le fait de pouvoir observer des spectres rayons X résonnants de structures quasi-cristallines, prouve que des phénomènes non locaux peuvent avoir lieu sur ce genre de structure. Cet argument semble ainsi caduc.

### 3.6.1 Cas limites

Pour une structure de plaque complètement ordonnée, la transmission est due aux plasmons polaritons de surface. Pour une structure complètement aléatoire, les plasmons polaritons de surface ne pourront être établis sur la plaque. Par ailleurs, d'autres phénomènes résonnants ne pourront pas non plus être établis. L'énergie totale transmise de l'état désordonné sera donc inférieure à celle de l'état ordonné.

### 3.6.2 L'expérience

Les plaques furent fabriquées selon le même type de procédé qu'auparavant, la particularité étant qu'un bruit gaussien a été ajouté sur la position des centres des trous carrés. La première plaque fut ainsi parfaitement régulière, et par la suite des séries de plaques furent faites avec des bruits gaussiens sur la position des centres, bruit dont la variance  $\Sigma$  fut contrôlée [8]. Ainsi elle fut augmentée de  $2 \mu\text{m}$  en  $2 \mu\text{m}$  jusqu'à ce que la géométrie ne l'autorise plus. Les plaques ayant des trous se superposant ont été rejetées. Le bruit fut le plus blanc possible, mais il comporte de par cette condition de non superposition des trous une légère coloration. Des plaques furent générées avec des périodes de  $300 \mu\text{m}$  et de  $400 \mu\text{m}$ , mais toutes les plaques furent faites de sorte à avoir un facteur de remplissage  $P$  égal à 3. Les plasmons polaritons de surface sont donc la source principale du passage du rayonnement à travers la plaque.

Les mesures prises sur ces plaques furent les spectres de transmission [107]. Cependant une des données moins habituelles, la transmission totale de la plaque (c'est à dire l'intégrale en fréquence du spectre transmis), servira de manière intéressante dans cette étude. Les mesures sont synthétisés sur la figure 3.21. Les courbes expérimentales montrent une claire augmentation du signal pour certaines valeurs du bruit. Il y a ainsi pour les réseaux de période

300  $\mu\text{m}$  une augmentation relative d'énergie de  $18.2 \pm 0.01\%$ , et pour ceux de période 400  $\mu\text{m}$  de  $11.0 \pm 0.01\%$ . Ces maxima sont trouvés respectivement pour des valeurs de  $\sigma$  égales à  $10.4 \pm 0.5 \mu\text{m}$  et à  $15.4 \pm 0.5 \mu\text{m}$ . Ceci suffit déjà à remettre en cause le postulat de l'ordre pour l'émission maximale des plasmons polaritons de surface. Ensuite avec l'augmentation du bruit le signal diminue, et pour les réseaux de période 400  $\mu\text{m}$  semble tendre vers une limite.

### 3.6.3 La modélisation

De façon schématique, le système physique couple plus d'énergie vers l'extérieur lorsqu'un de ses paramètres est bruité. Ceci conduit directement à la résonance stochastique dont la phrase précédente est la définition la plus récente [107].

La résonance stochastique a été introduite pour la première fois par Benzi *et al.* [108] afin d'expliquer la périodicité des changements entre ères glaciaires et ères tempérées. Le modèle considérait un double puits de potentiel, un bruit qui regroupait toutes les interactions non modélisables, et un couplage très faible périodique, provenant du cycle de modification de l'excentricité de la terre. Il est notable que ce cycle est le même que celui des changements d'ères. En utilisant ce modèle, les chercheurs trouvèrent effectivement des cycles à la bonne période.

La résonance stochastique fut formalisée de manière rigoureuse par McNamara *et al.* [109], en utilisant l'équation maîtresse [96] et un système à deux niveaux, avec une source de bruit blanc et un couplage faible oscillant. Suite à cela le modèle fut émancipé de ces conditions d'application très restrictives [110–114]. Ainsi des systèmes ayant un couplage non négligeable, un couplage non périodique, un bruit coloré, plusieurs niveaux ou subissant un processus non markovien sont le siège de résonances stochastiques. Enfin, les théories de résonance stochastique sont utilisées pour modéliser la génération de signaux neuronaux, certaines réactions chimiques, certaines propriétés de liquides colloïdes, l'activation de canaux ioniques, les changements d'opinions publiques et quelques processus complexes d'auto organisations [115–118].

Les résultats expérimentaux peuvent être modélisés en considérant que le système subit un grand nombre de résonances stochastiques de McNamara. Dans le modèle de Fano [89], la transmission à travers le réseau, est décrite par la diffusion à travers un système couplé de continuum et d'un niveau isolé. La résonance stochastique agit sur chaque couple (niveau du continuum)-(niveau isolé), ce sont des résonances stochastiques individuelles (ISR). La

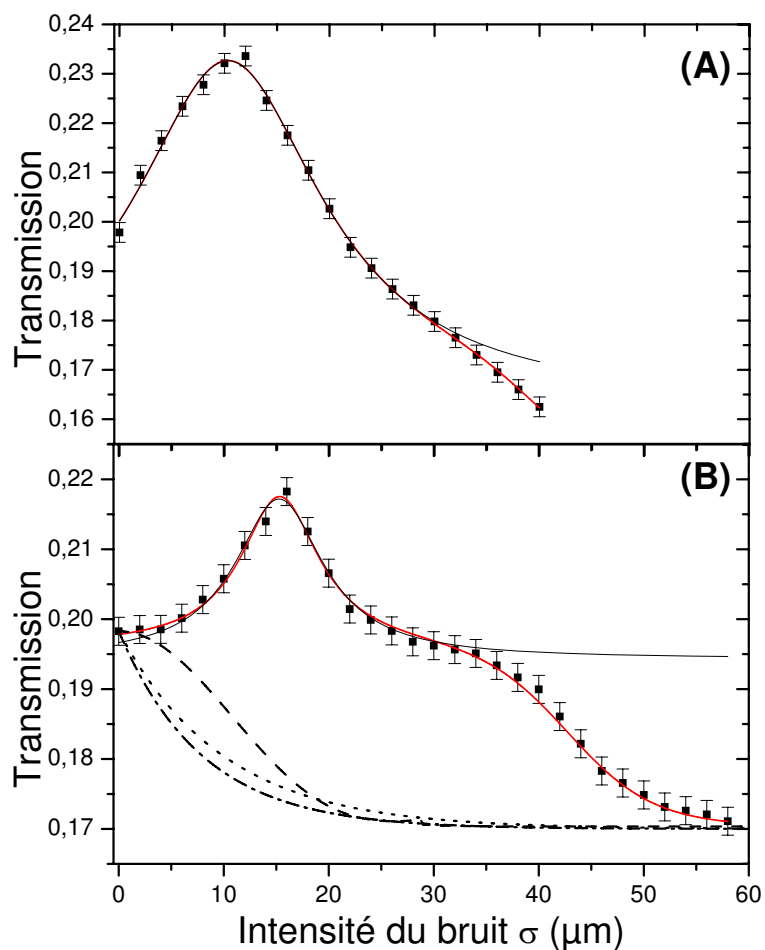


FIG. 3.21 – Évolution de la transmission totale en fonction du niveau de bruit pour une période de  $300 \mu\text{m}$  (A) et pour une période de  $400 \mu\text{m}$  (B). Les données expérimentales sont représentées par les points noirs, et la courbe théorique par les lignes rouges. Les lignes noires (sur la courbe B) sont les résultats de modèles classiques, ondes de Bloch (hachure), Bethe (point) et CDWE (hachure-point).

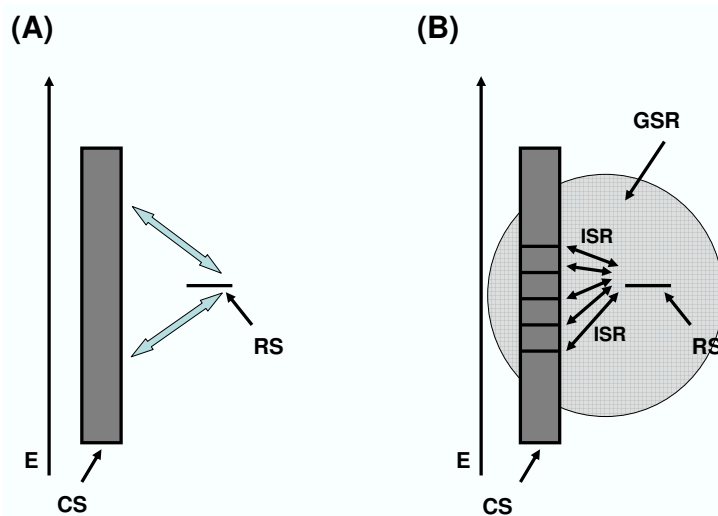


FIG. 3.22 – Représentation du modèle de résonance stochastique. Le dessin **A** rappelle le modèle de Fano. Le dessin **B** représente le modèle de résonance stochastique appliquée au modèle de Fano. Les termes ISR et GSR signifient respectivement résonance stochastique individuelle et résonance stochastique globale.

combinaison de toutes les ISR donne une résonance stochastique globale (GSR). Le modèle de résonance stochastique peut être également vu de la manière suivante : le bruit autorise le système à parcourir de manière plus complète tous ses états, ainsi dans ce modèle la résonance stochastique permet au système de mieux voir le niveau plasmon polariton, qui couple plus d'énergie vers l'extérieur (figure 3.22).

De plus cette hypothèse peut être partiellement vérifiée par la vision de quelques spectres expérimentaux (figure 3.23). La courbe rouge présente (par rapport à la courbe noire) une augmentation générale de transmission, ainsi qu'un élargissement de celle-ci. Ce qui semble cohérent avec la modélisation impliquant la résonance stochastique. Ainsi par l'analogie avec le modèle à deux niveaux de Mcnamara [109], une première fonction de description des expériences peut être donnée (une Lorentzienne)

$$T = T_o + A_1 \frac{\omega^2}{4(\sigma - \sigma_M)^2 + \omega^2}, \quad (3.15)$$

où  $\sigma_M$  est le bruit optimal, et  $\omega$  la largeur de la résonance. Cependant, cette fonction ne sera pas suffisante pour modéliser le problème dans sa totalité. Un second processus a lieu pendant

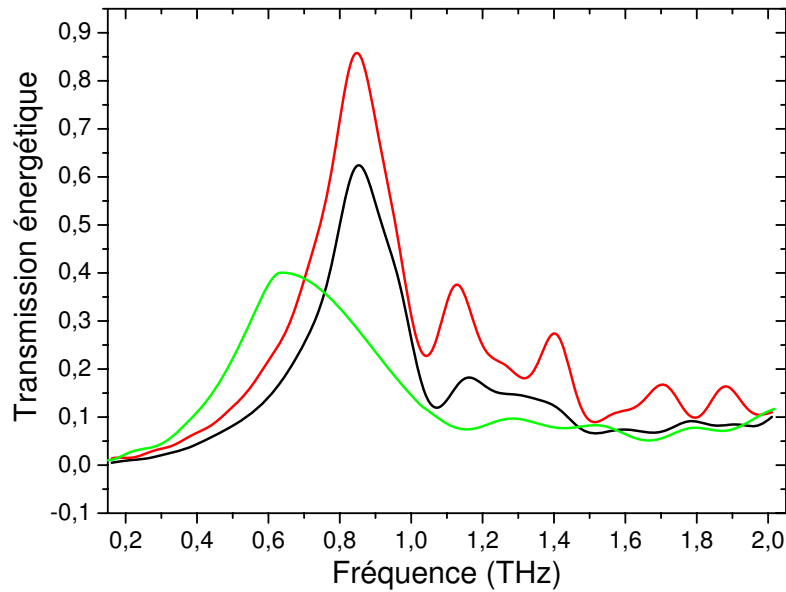


FIG. 3.23 – Exemples de spectres énergétiques transmis pour  $\sigma=0 \mu\text{m}$  (ligne noire),  $\sigma=12 \mu\text{m}$  (ligne rouge) et pour  $\sigma=60 \mu\text{m}$  (ligne verte).

la résonance stochastique ; ce second processus peut être assez simplement compris à l'aune des modèles de la partie précédente. A mesure que le bruit augmente, la transmission tend vers un état où elle est assurée par la simple somme des transmissions de chaque trou. Le spectre vert sur la courbe plus haut en témoigne. Cet état de transmission n'est pas éloigné de l'état de transmission des plaques pour  $T < T_c$ . L'évolution de la transmission générale peut être considérée comme le signal de spectroscopie suivant l'évolution de l'équilibre entre deux phases à mesure que la température augmente. Ici la température serait directement liée à la variance du bruit, ce qui est par ailleurs une définition usuelle de la température. Il faut alors ajouter une autre fonction à  $T$  pour traduire cet équilibre, qui sera ici une sigmoïde de Boltzmann [8; 99; 119; 120] :

$$T = T_o + A_1 \frac{\omega^2}{4(\sigma - \sigma_M)^2 + \omega^2} + \frac{A_2}{1 + \exp[(\sigma - \sigma_o) / \Delta\sigma]}. \quad (3.16)$$

La fonction  $T$  est tracée pour les deux réseaux sur la première figure 3.6.2. Il y a une très bonne correspondance avec les résultats expérimentaux. Les largeurs à mi-hauteur des résonances peuvent être extraites et valent pour le réseau de  $300 \mu\text{m}$  :  $21.6 \mu\text{m}$  et pour le réseau de  $400 \mu\text{m}$  :  $9.1 \mu\text{m}$ . Ces courbes donnent accès à deux autres données primordiales :

- A considérer cette expérience comme l'évolution entre deux phases, il y a un accès direct

à la différence d'"énergie" entre les deux phases. C'est l'exacte énergie en plus que donne le plasmon polariton, par rapport à la somme des contributions de Bethe de chaque trou. Il est à noter que ce gain est différent pour chaque période spatiale des trous, comme cela se voit sur les graphes.

- La seconde donnée est intéressante mais cependant assez confuse.  $\tilde{E} = -\sigma_o \left( \frac{dT}{d\sigma} \right)_{\sigma=\sigma_o}$  est constant pour une période donnée. La donnée  $\tilde{E}$  est une donnée relative, car l'échelle d'énergie qu'elle donne ne peut être reliée au gain d'énergie observé au cours des expériences précédentes.  $\tilde{E}$  semble ne dépendre que du facteur de remplissage.  $\tilde{E}$  donne une sorte d'énergie caractéristique à fournir par le système pour passer d'une phase à une autre. C'est une conséquence du modèle choisi.

Il est notable que deux effets contradictoires agissent sur ce genre de système. Pour de très grands facteurs de remplissage la transmission est due aux plasmons polaritons de surface. Ainsi la résonance stochastique pourrait avoir un effet très important. Mais, pour ces mêmes grands facteurs de remplissage, la génération des plasmons polaritons de surface est très sensible à la géométrie. De même, pour de petits facteurs de remplissage, le plasmon polariton de surface joue un rôle moins important dans la transmission du signal, mais il est moins sensible à la géométrie. Ainsi, il est clair qu'il doit exister un facteur de remplissage idéal pour lequel le signal couplé sera un maximum total de ce qui peut être couplé à travers une plaque à trous.

De cette expérience, quelques autres remarques peuvent être faites. Du point de vue de la plasmonique, il y a le côté positif de l'énergie couplée en plus, qui pourra être exploitée, tant du point de vue du spectre qui est bien conservée que du simple point de vue de la détection du signal. Cependant il y aura le prix de la non reproductibilité à payer, car un petit défaut de positionnement géométrique pourra avoir de grandes conséquences sur le signal. Il est d'ailleurs légitime de se demander si le manque de reproductibilité des expériences de plaques à trous, dans le visible et dans le proche infrarouge, observé dans les différents articles, ne serait pas simplement dû aux effets de la résonance stochastique.

### 3.6.4 Remarques, perspectives et considérations

- Dans la partie sur le modèle de Fano, une approximation parabolique du Hamiltonien d'interaction s'est avérée capable de donner le potentiel  $V_E$ . Cependant, dans la par-

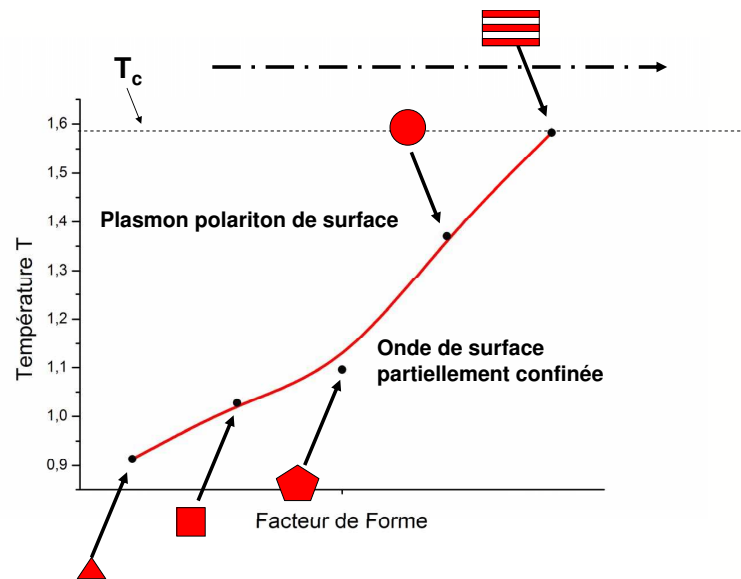


FIG. 3.24 – Représentation du diagramme de phase. La ligne rouge représente la limite entre les phases. La ligne en pointillé désigne la limite donnée par la température  $T_c$ . La ligne faite de tirets et de points désigne le parcours hypothétique suivi lors de l'expérience de résonance stochastique.

tie sur les transitions de phase, il a été montré que les plasmons polaritons de surface peuvent être considérés comme une phase d'ondes électromagnétiques de surface. Il apparaît alors que cette approximation parabolique peut être considérée comme l'équivalent du développement du viriel [8] (au second ordre) pour les gaz parfaits.

- A partir de certains éléments développés dans ce chapitre, des morceaux de diagramme de phases peuvent être tracés (figure 3.24).

En définissant un facteur de forme (arbitraire), un diagramme de phase [8; 99] peut être tracé entre la phase des plasmons polaritons de surface et la phase des ondes de surfaces partiellement confinées. De plus un trajet type dans le diagramme décrivant l'expérience de résonance stochastique est donné par la flèche (trait pointillé) sur le haut du diagramme. Ainsi, le système passe d'une phase de plasmon polariton de surface à une phase d'ondes de surfaces partiellement confinées de manière continue, sans subir de discontinuité. C'est le même type d'expérience que de passer d'une phase liquide à une phase gazeuse pour l'eau, en contournant le point critique.

- Au cours des différentes étapes de cette étude apparaît une nouvelle notion : la non



linéarité, est apparue de façon claire mais elle n'a pas été discutée car elle prête à confusion pour des raisons fascinantes de culture. Le phénomène de transmission à travers ces plaques est linéaire du point de vue optique ; un champ  $E$  envoyé sur cette plaque donnera une transmission  $T$  et un champ  $2E$  donnera  $2T$  [11]. Mais le phénomène n'est pas linéaire par rapport au nombre de trous, la réponse de la plaque n'est pas  $N$  fois la réponse d'un trou. De plus, la résonance stochastique [118] est une manifestation des non linéarités physiques de l'interaction du rayonnement avec la plaque, car la résonance stochastique ne peut avoir lieu sur un système linéaire.

- Dans les expériences de transitions de phase, il y a une différence dans les troubles que peuvent provoquer les expériences sur la transition de premier ordre et les expériences sur la transition de second ordre. Il est surprenant de voir la première fréquence de résonance subir une discontinuité au niveau d'un certain facteur de remplissage. Interprété par un opticien, cela reviendrait à voir un oscillateur présenter une discontinuité dans sa fréquence de résonance. La discontinuité de la capacité calorifique est après tout moins surprenante. Dans les expériences de transition de phase du second ordre, le comportement du minimum de transmission en loi de puissance, est, après tout, ce qu'il est, il n'y a pas de comportements préétablis. Mais par contre le comportement divergent de la capacité calorifique est surprenant.
- Un des problèmes soulevé par ces différentes conceptions et modélisation est le cas limite de conductivité infinie. Le premier souci vient de la non précision de cette limite. Par exemple, en diffusion, lors du passage à la limite continue, le pas du réseau imaginaire  $a$  tend vers 0 et le pas de temps  $\tau$  tend vers 0 mais avec la contrainte  $D = \frac{a^2}{\tau}$ . Une des conséquences de la conductivité infinie du métal est l'impossibilité pour le champ électrique et magnétique de pénétrer dans le matériau. Par certains aspects, cela peut être interprété en disant que les électrons de surfaces sont si efficaces qu'ils se contentent de faire passer l'information à la surface du métal. Mais dans le fond, dans ce type de limite, la question des électrons de surface reste peu claire.
- Les expériences tendent à montrer une importance primordiale des électrons de surface. Cela paraît assez niais, et il est clair que le phénomène n'est pas miraculeux. Cependant les expériences tendent à indiquer une forte importance du comportement de ces électrons, qui ne peut être entièrement compris sous une simple permittivité.
- Les électrons entrent aussi en problématique à travers la résonance stochastique, car la

résonance stochastique est un processus non linéaire. Un processus linéaire verrait le signal de sortie être affecté linéairement par le bruit. Il n'est pas fait ici référence à des non linéarités optiques. Si un champ électrique envoyé sur une plaque correspond à un signal de sortie, un champ incident doublé donnera un signal de sortie doublé.

- Une vision différente peut aussi aider à interpréter ces transitions de phase. Cela peut même donner une autre clef de compréhension de ces phénomènes de transmission anormale à travers les réseaux de trous. Par bien des aspects un métal est une "mer" d'électrons. De même pour un métal de conductivité infinie (peu importe le sens précis qui est donné à ces termes) a une mer d'électrons à sa surface. Pourquoi ce terme de mer : car il traduit le grand nombre d'électrons disponibles pour interagir et le caractère fortement non local de leurs comportements. Il peut alors être dit que les plasmons polaritons sont aux phonons polaritons ce que les propriétés d'un liquide sont aux propriétés de sa phase cristalline "la plus proche". De plus il est remarquable que les coefficients critiques de certaines transitions de mouillage [121] soient semblables à ceux trouvés. Alors, un parallèle doit pouvoir être tracé entre le mouillage et le comportement de photons à la surface de ces plaques. Pour  $T < T_c$ , il n'y a qu'un mouillage partiel des photons sur la plaque, et ainsi une transmission qui n'est principalement que le fruit du passage direct du rayonnement. Lorsque  $T = T_c$ , si la géométrie est celle des fentes, alors les photons subissent une transition de mouillage leur permettant d'interagir plus complètement avec le métal. Si la géométrie est celle des réseaux de trous, alors la transition de mouillage se fait par une transition de premier ordre. Par la suite, pour  $T > T_c$  le mouillage s'effectue, avec des caractéristiques dépendant de la température.

### 3.6.5 Conclusion

Cette expérience a deux grands intérêts : elle a permis de montrer qu'un léger niveau de bruit dans le positionnement des trous permet de coupler plus de signal vers l'extérieur, tout en conservant la forme du spectre. La résonance stochastique s'est avérée être un très bon modèle pour décrire ce processus. De plus l'évolution complète du signal a dévoilé l'équilibre entre deux phases et ainsi a permis d'avoir accès aux énergies "types" de réorganisation du champ électrique à la surface des plaques. Enfin, cette partie présente une convergence entre les premiers types de modèles, dont celui de Fano, et les modèles basés sur la physique

statistique.

# Conclusion générale

Ce travail a produit trois résultats principaux :

1. L'eau est un acteur biologique majeur et les flux de celle-ci peuvent jouer un rôle fondamental dans le fonctionnement de certaines cellules.
2. Une méthode d'imagerie a été développée. Elle permet d'imager les flux d'eau et d'ions entre les cellules. Elle permet aussi de voir la répartition spatiale des ions.
3. Une nouvelle approche, inspirée de la physique statistique permet de décrire certains comportements de l'interaction électromagnétique à la surface de plaques percées de trous de taille inférieure à la longueur d'onde.

Grâce au système d'imagerie développé au cours de ce travail, de vastes mouvements d'eau dans des neurones de lombric ont pu être observés. Ces mouvements ont pu être mesurés tant pour des stimuli chimiques que pour des stimuli thermiques. Ces échanges excèdent de loin ce qui pourrait être considéré comme un passage d'ions avec leurs couches de solvatation. En effet, il aurait pu être envisageable que les ions passent les pores membranaires avec de l'eau. Mais les quantités mesurées, qui sont de l'ordre du picolitre par micromètre d'axones, sont immenses. A tel point que les effets de dilutions ou de concentrations en deviennent conséquents, et peuvent modifier de manière claire les conditions de propagations du potentiel d'action. De même ces échanges massifs modifient les conditions d'osmolarités, et les conditions d'équilibre mécanique des cellules. Ils pourraient donc se traduire aussi par l'activation d'un ensemble de gènes mécanosensibles.

La méthode d'imagerie, développée dans cette étude, qui a permis ces études biologiques, est appelée **l'imagerie de contraste ionique térahertz**. Elle combine l'extrême sensibilité des rayonnements térahertz aux concentrations ioniques à une adaptation des techniques et des analyses de champ proche. Cette condition d'expérimentation et condition conceptuelle d'interaction est nommée le **contraste de champ proche**. La combinaison de ces deux

éléments offre la possibilité de voir les ions se déplacer dans objets biologiques épais ainsi que de voir l'eau sous certaines conditions. Cette technique offre aussi les moyens d'étudier avec une grande précision les évolutions des ions et de l'eau dans des systèmes biologiques, sans contact ni invasivité d'aucune sorte.

Cette nouvelle méthode d'imagerie est en cours d'adaptation sur un système expérimental entièrement consacré à la biologie. Sur le schéma 3.25, il peut être vu sa représentation sous le logiciel qui a permis de le concevoir. Il permettra de pouvoir déposer de manière fiable l'échantillon biologique et de contrôler avec une grande précision, les lentilles et l'ouverture champ proche (ou la pointe champ proche). La première expérience qui sera menée verra un système complet d'électrophysiologie s'installer sur l'expérience afin d'explorer en profondeur les flux d'eau dans les neurones.

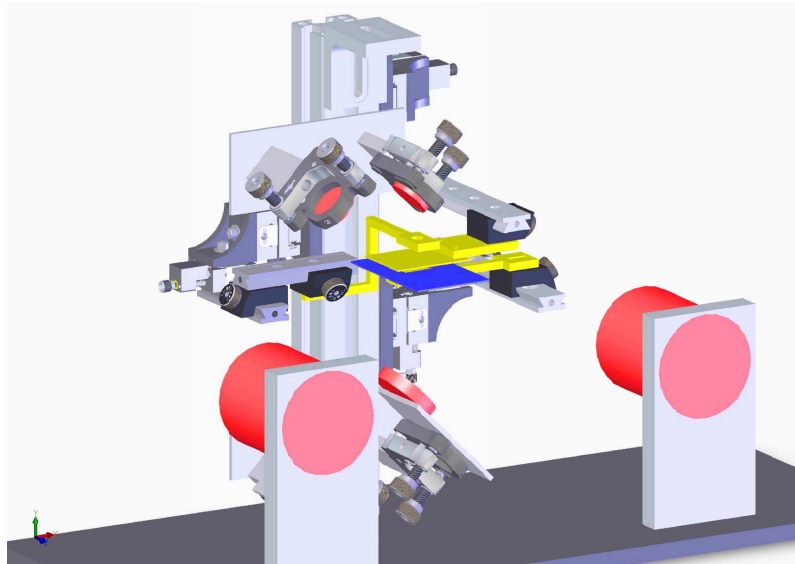


FIG. 3.25 – Représentation de la partie microscope du prochain système expérimental. Il peut être vu, des deux cotés de l'image, les deux miroirs paraboliques et le système de miroirs permettant de rendre le signal térahertz vertical. Enfin il peut être vu tous les systèmes de réglages pour placer l'échantillon, l'ouverture champ proche (ou la sonde), et les deux lentilles en téflon.

Enfin, les interactions électromagnétiques avec des plaques métalliques percées de trous de taille inférieure à la longueur d'onde ont été abordées sous deux modèles différents. Un lien entre ces modèles a même été détaillé dans le travail sur la résonance stochastique. La première approche s'est faite sur le modèle complet de Fano. L'étude a permis de détailler le

potentiel d'interaction entre le continuum d'états et le niveau plasmon polariton. Ce même modèle, ainsi que des simulations en éléments finis, ont pu décrire le comportement du champ électromagnétique sur des plaques percées de deux réseaux de trous elliptiques orientés à  $90^\circ$ . La seconde approche est la conséquence des expériences montrant l'évolution de champ électromagnétique sur des plaques dont les facteurs de remplissages évoluaient de manière très précise. Les résultats expérimentaux sont caractéristiques de transitions de phase de premier et de second ordre. Le modèle développé alors pour décrire ces expériences est la percolation. Enfin l'augmentation du signal térahertz transmis pour des plaques présentant un léger désordre structurel a été modélisée par la résonance stochastique.

L'approche qui semble avoir un certain intérêt pour mieux comprendre la dynamique des plasmons polaritons de surface est **l'approche par la physique statistique**. Les expériences qui furent menées l'invitent de manière prégnante. Il semble qu'un gros travail de communication devra être fait pour créer la discussion sur ce sujet. Il apparaît clair qu'il faudra dans un premier temps prouver que les conditions d'expérimentation utilisées sont tels que les développement classiques des équations de Maxwell ne peuvent être utilisés. Alors l'interprétation des résultats apparaîtra plus logique. De plus, il faudra trouver des solutions permettant de décrire des transmissions qui perdent leurs résonances ou certaines caractéristiques de manière continue (en loi de puissance) et de manière discontinue (transition de premier ordre). Il sera aussi clairement demandé de comprendre pourquoi certains modèles qui violent soit les condition aux limites, soit certaines lois de conservation peuvent quand même décrire en partie certains résultats expérimentaux. D'autres travaux expérimentaux se concentreront sur la résonance stochastique afin de trouver la maximum d'énergie qui peut être transmis à travers ces plaques. Ceci donnera une borne supérieure d'énergie qu'un modèle adapté devra pouvoir expliquer. De plus la caractérisation de la transition du plasmon polariton vers l'état de simples ondes de surface, en faisant varier les différents paramètres des plaques pourra permettre de savoir exactement ce que le plasmon polariton change sur la transmission de celles-ci. Il est à noter que les ondes térahertz sont ici un fort atout car les tailles caractéristiques figées par cette gamme du spectre rendent les expérimentations particulièrement simples.



# Annexe A

## La mesure des ions en biologie

### A.1 Le dosage

Du point de vue général c'est une des méthodes les plus anciennes et les plus utilisées en chimie [58; 59]. Elle consiste à placer un échantillon dans un récipient et d'utiliser un autre produit qui va réagir sur celui-ci pour pouvoir déterminer la quantité du produit recherché. Au cours de cette procédure une quantité physique est suivie, afin de savoir quand la quantité de produit ajouté permet de connaître la quantité de produit recherchée.

#### A.1.1 La colorimétrie

Pour les ions la plupart du temps un ligand est ajouté à la solution à doser, et le complexe formé est dosé en présence d'un indicateur coloré sensible à l'ion, ce dosage est suivi en général avec un spectromètre UV-visible [58; 59].

#### A.1.2 Par précipité

Un produit qui fait précipiter [58; 59] le complexe ion-produit est ajouté et ce précipité est dosé afin qu'il se re-dissolve dans la solution ; ou à l'inverse un produit qui se lie à l'ion est versé et c'est le dosant qui va faire précipiter le complexe.



### A.1.3 Par conductimétrie

Le principe est alors de mesurer la conductivité de la solution par l'intermédiaire d'une électrode [58; 59]. Il existe des électrodes spécifiques à certains ions. Cependant pour une solution contenant de nombreux ions il ne sera pas forcément possible de donner leur concentration. Il est à noter qu'il existe deux modes de fonctionnement pour ce genre de mesure, soit la solution est diluée alors la conductivité vaut

$$\sigma = \sum_i |z_i| \lambda_i^o(A_i) C_i \quad (\text{A.1})$$

ou  $\sigma$  est la conductivité et se mesure en  $\text{Sm}^{-1}$ ,  $z_i$  est la charge de l'espèce  $A_i$ ,  $\lambda_i^o$  est la conductivité molaire ionique à la dilution infinie de  $A_i$  et se mesure en  $\text{Sm}^2\text{mol}^{-1}$ , et  $C_i$  est la concentration de  $A_i$  et se mesure en  $\text{mol}^{-1}$ . Soit elle est plus concentrée ou l'électrolyte est fort alors

$$\sigma = \sum_i |z_i| \lambda_i^o(A_i) C_i + \sum_i \alpha_i(A_i) \sqrt{C_i} \quad (\text{A.2})$$

ou  $\alpha_i$  est une constante qui dépend de  $A_i$  et est mesurée en  $\text{Sm}^{-1}\text{mol}^{-\frac{1}{2}}$ .

## A.2 Sonde de Castaing

Issus des travaux de thèse de R. Castaing [122–124] en 1952 et datée de 1960 la sonde de Castaing, mesure le rayonnement X issu d'une cible bombardée par des électrons. De plus il a montré la relation entre l'intensité du signal mesuré et la concentration de l'élément étudié. L'analyse peut être faite sur un volume de l'ordre du micron cube. La limite de détection est de l'ordre de 100 ppm, et elle permet de détecter tous les éléments de numéro atomique supérieur à 3. C'est une méthode non destructive. La précision en mesure de concentration bien qu'étant dépendante de nombreux facteurs (tension d'accélération, courant électronique etc..) est de l'ordre du pour cent. Cette technique est particulièrement utilisée par les biologistes et les médecins qui étudient le rein. Ils effectuent des microponctions de l'ordre du femtolitre, qu'ils font "sécher" sur une pastille qui est ensuite analysée par l'appareil. Cette sonde est particulièrement utile pour analyser des mélanges avec de nombreux ions.

## A.3 Les sondes fluorescentes ions-dépendantes

Cette méthode consiste en l'introduction d'un agent chimique qui va se lier à un ion, de façon préférentielle ; dès que la chélation [58; 59] a lieu (type de liaison courante) la fluorescence de l'agent chimique se modifie et donc les ions peuvent être "vus". Par exemple pour l'ion calcium, les premières sondes fluorescentes furent développées par l'équipe de Tsien [50–52] dans les années 80. Le premier fut le Quin-2. Il est constitué d'un chélateur de  $\text{Ca}^{++}$  (L'EGTA ou le BAPTA) associé à un fluorophore (figure A.1).

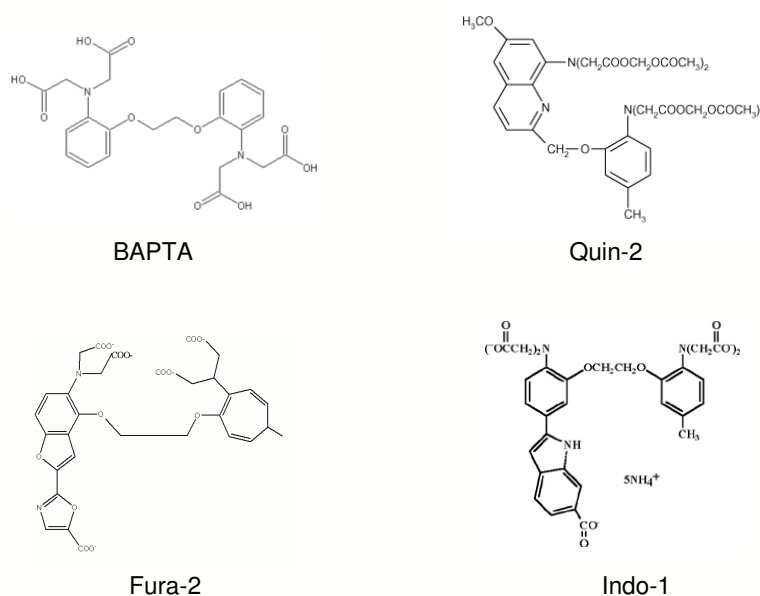


FIG. A.1 – Exemples de molécules fluorescentes servant de sonde-à-ions.

Sa constante de dissociation est  $K_d = 114 \text{ nM}$ . Enfin Elle a une stoechiométrie 1 : 1. Aujourd'hui elle est moins répandue car elle doit être excitée en UV, elle a un faible rendement quantique, et elle est photolabile. Aujourd'hui les sondes les plus répandues sont Fura-2 et l.Indo-1. La liaison du calcium avec la sonde entraîne à la fois une variation l'intensité de fluorescence et un déplacement du spectre d'excitation (Fura-2) ou du spectre d'émission (Indo-1). Ces méthodes ont un grand avantage qui est la visualisation de la répartition des ions dans les cellules, et elles permettent une évaluation de la quantité de ceux-ci par mesure de la fluorescence. Les inconvénients sont une quasi absence d'études, vérifiant leur inaction dans des processus biologiques, une incertitude sur des mesures de quantité, et assez souvent

à plus ou moins long terme de la photolabilisation.

## A.4 Les électrodes invasives et le patch-clamp

Ces méthodes sont principalement utilisées sur des cellules excitables [49].

### A.4.1 Les électrodes invasives

La méthode consiste à insérer dans la cellule une électrode et de mesurer la différence de tension par rapport à une électrode masse. Cela ne donne pas accès directement aux ions, mais à la différence globale de concentration d'ions entre l'extérieur de la cellule et l'intérieur. L'accès aux concentrations ioniques se fait par l'intermédiaire de la loi de Nernst, qui dit que le potentiel pour un ion en solution vaut :

$$E_{ion} = E_{ion}^o + \frac{RT}{ZF} \ln \left( \frac{[ion]}{[ion]_o} \right), \quad (\text{A.3})$$

où  $E_o$  ion est le potentiel de référence de l'ion,  $R=8.314 \text{ JK}^{-1}$  est la constante des gaz parfaits,  $T$  est la température,  $Z$  est la valence de l'ion,  $F=96\,485,3415 \text{ SAmol}^{-1}$  est la constante de Faraday,  $[ion]$  est la concentration de l'ion, et  $[ion]_o$  est la concentration de référence. Ici, l'activité de l'ion a été abusivement confondue avec sa concentration.

### A.4.2 Le patch-clamp

Cette technique permet la mesure des courants ioniques [49] traversant les canaux à potentiel connu, imposé par l'expérimentateur. Elle fut développée par Neher et Sakmann[125] en 1976. Il peut y avoir de nombreuses configurations de cette expérience suivant la nature des canaux envisagés, les parties de cellules excitables à étudier et le type de phénomène qui veut être observé. Mais la partie commune consiste en la mise en contact de la membrane avec une pipette qui mesurera le flux. Cette technique permet donc de mesurer la quantité d'ions par l'intermédiaire de courant mesuré, cependant cela implique que l'ion qui va être mesuré soit déjà connu.

### A.4.3 La sonde vibrante spécifique à un ion (Vibrating Ion-Selective Probe ou VISP)

La sonde vibrante spécifique pour un ion [126] (Vibrating Ion-Selective Probe ou VISP) permet de cartographier spatio-temporellement les flux d'un ion à travers la membrane plasmique d'une cellule simplement en déplaçant la sonde à la surface de la cellule. Elle peut aussi servir à cartographier des zones extracellulaires.

### A.4.4 Mesure d'un flux ionique

La VISP est constituée d'une électrode spécifique pour un ion qui oscille entre deux positions (d'où son nom de sonde vibrante). Cette électrode est constituée par une pipette de patch contenant une solution de concentration connue pour cet ion et dont l'extrémité est remplie par un ionophore spécifique pour cet ion. L'électrode spécifique mesure donc une différence de potentiel qui est directement proportionnelle à la concentration de l'ion dans laquelle baigne l'électrode (selon la loi de Nernst). L'oscillation de l'électrode (10-15 mm avec une période de 1-3 sec) est pilotée par ordinateur qui enregistre les mesures en parallèle. En fait, la VISP mesure indirectement les flux ioniques : la VISP mesure le gradient de concentration de l'ion entre deux positions. La différence de concentration est due au flux de cet ion. Selon la concentration moyenne de l'ion dans la solution et la distance entre les deux positions entre lesquelles la sonde oscille, l'intensité du flux ionique (en  $\text{pmol cm}^{-2} \text{sec}^{-1}$ ) peut donc être calculée à partir de cette différence de concentration .

### A.4.5 Mesure de flux ionique membranaire

La sonde peut être amenée à proximité de la cellule (1-5 mm) : elle mesure alors des flux ioniques considérés comme proportionnels aux flux ioniques transmembranaires. La mesure n'est donc pas quantitative : la VISP ne permet que l'approximation des flux transmembranaires d'un ion donné. En fait, des mesures réellement quantitatives ne sont pas réalisées : seul le sens d'un flux (influx ou efflux) et ses variations au cours du temps (avec une précision de l'ordre de la seconde) sont détectés. Les mesures de flux ne sont qu'indicatives d'un ordre de grandeur (précision de 10-20 %). La durée des enregistrements est indéfinie. Les flux ioniques mesurés sont les flux ioniques globaux, dus tant à l'ensemble des transporteurs membranaires,

qu'aux phénomènes d'exo- et d'endocytose.

#### A.4.6 Mesure spatio-temporelle d'un flux ionique

La mesure de flux est valable dans une région de environ  $1 \text{ mm}^2$  à l'extrémité de la pipette ce qui permet une bonne résolution des variations spatiales des flux ioniques membranaires de la cellule. L'ordinateur qui pilote l'oscillation de la sonde permet aussi de contrôler la position de la sonde dans l'espace. L'extrémité de la sonde peut ainsi être déplacée à la surface d'une cellule. Il est possible de mesurer directement des flux ioniques membranaires mais aussi de cartographier ces flux à la surface d'une cellule. La VISP permet une cartographie spatiotemporelle aisée des flux d'un ion donné sur une cellule (précision de l'ordre d'une dizaine de  $1 \text{ mm}^2$ ). La VISP est un outil de choix pour l'étude des polarités cellulaires. Les avantages de cette méthode sont la vision spatiale des ions avec une résolution qui dans certains systèmes peut atteindre  $50 \mu\text{m}$ , une mesure qui peut être quantitative dans certains cas, et des mesures de flux non invasives. Les inconvénients sont : un manque de précision pour les mesures de flux, l'introduction perturbative pour le milieu extérieur d'une sonde, et une résolution temporelle peu adaptée à des phénomènes rapides.

# Annexe B

## Modèle de Fano

Le modèle que Fano [23; 24; 89–92] a utilisé dans son article sur l’autoionisation de l’hélium est présenté ici. Seule les premières parties sont reprises ici, afin de justifier le calcul. Cependant le reste de l’article est très intéressant.

Un niveau isolé de vecteur  $|\varphi\rangle$  est considéré et un continuum d’énergie de vecteurs pour une énergie  $E'$  qui vaut  $|\psi_{E'}\rangle$ . Tous ces états sont non dégénérés, et ont pour seul nombre quantique utile leur énergie. Avec  $H$  le Hamiltonien d’interaction du système :

$$\langle\varphi|H|\varphi\rangle = E_\varphi, \quad (\text{B.1})$$

$$\langle\psi_{E'}|H|\varphi\rangle = V_{E'}, \quad (\text{B.2})$$

$$\langle\psi_{E''}|H|\psi_{E'}\rangle = E'\delta(E'' - E'), \quad (\text{B.3})$$

avec  $\delta$  la fonction de Dirac. La matrice totale doit être diagonalisée. Chaque énergie de valeur  $E$  comprise dans le gamme des valeurs  $E'$ , est une valeur propre de  $H$ , son vecteur propre s’écrit donc sous la forme suivante

$$\Psi_E = a\varphi + \int dE' b_{E'}\psi_{E'} \quad (\text{B.4})$$

où  $a$  et  $b_{E'}$  sont des facteurs qui dépendent de  $E$ . En introduisant cette formule dans celles précédentes :

$$E_\varphi a + \int dE' V_{E'}^* b_{E'} = E a \quad (\text{B.5})$$

$$V_{E'} a + E' b_{E'} = E b_{E'}. \quad (\text{B.6})$$

L’expression de  $b_{E'}$  est donc :

$$b_{E'} = \left[ \frac{1}{E - E'} + z(E)\delta(E - E') \right] V_{E'} a. \quad (\text{B.7})$$

L'apparition du  $\delta$  a pour but d'éviter une anomalie si  $E=E'$ . En introduisant cette formule dans (4.5),

$$E_\varphi + F(E) + z(E)|V_E|^2 = E \quad (\text{B.8})$$

et

$$F(E) = \Pi \int dE' \frac{|V_{E'}|^2}{E - E'} \quad (\text{B.9})$$

où  $\Pi$  désigne la partie principale de l'intégrale ( en fait  $F(E)$  est une transformée de Hilbert à  $\pi$  près), ce qui donne

$$z(E) = \frac{E - E_\varphi - F(E)}{|V_E|^2}. \quad (\text{B.10})$$

$|V_E|^2$  a la dimension d'une énergie. C'est la normalisation qui permet de trouver  $a$

$$\langle \Psi_{\bar{E}} | \Psi_E \rangle = a^*(\bar{E})a(E) + \int dE' b_{E'}^*(\bar{E})b_{E'}(E) = \delta(\bar{E} - E). \quad (\text{B.11})$$

En introduisant l'expression de  $b$  et en se rappelant que

$$\frac{1}{(\bar{E} - E')(E - E')} = \frac{1}{\bar{E} - E} \left( \frac{1}{E - E'} - \frac{1}{\bar{E} - E'} \right) + \pi^2 \delta(\bar{E} - E) \delta \left[ E' - \frac{1}{2} (\bar{E} + E) \right] \quad (\text{B.12})$$

il y a :

$$|a(E)|^2 = \frac{1}{|V_E|^2 [\pi^2 + z^2(E)]} \quad (\text{B.13})$$

et en réécrivant

$$a = \frac{\sin(\Delta)}{\pi V_E} \quad (\text{B.14})$$

$$b_{E'} = \frac{V_{E'}}{\pi V_E} \frac{\sin(\Delta)}{E - E'} - \cos(\Delta) \delta(E - E') \quad (\text{B.15})$$

$$\Delta = -\arctan\left(\frac{\pi |V_E|^2}{E - E_\varphi - F(E)}\right). \quad (\text{B.16})$$

Une matrice de transition est introduite. Elle a une excitation quelconque pour source. Elle sert de cadre formel pour étudier la probabilité de transition entre un état initial  $i$  et l'état  $|\Psi_E\rangle$ .

$$\langle \Psi_E | T | i \rangle = \frac{1}{\pi V_E^*} \langle \Phi | T | i \rangle \sin(\Delta) - \langle \psi_E | T | i \rangle \cos(\Delta) \quad (\text{B.17})$$

où :

$$\Phi = \varphi + P \int dE' \frac{V_{E'} \psi_{E'}}{E - E'}, \quad (\text{B.18})$$

En introduisant :

$$\epsilon = -\cot(\Delta) = \frac{E - E_\varphi - F(E)}{\pi |V_E|^2} \quad (\text{B.19})$$

---

et donc en étudiant le rapport de la transition de probabilité  $|\langle \Psi_E | T | i \rangle|^2$  avec la probabilité  $|\langle \psi_E | T | i \rangle|^2$  de transition avec le continuum non perturbé, la transmission, au sens ou elle sera utilisé dans le chapitre 2 vaut

$$\frac{|\langle \Psi_E | T | i \rangle|^2}{|\langle \psi_E | T | i \rangle|^2} = \frac{(q + \epsilon)^2}{1 + \epsilon^2} \quad (\text{B.20})$$

avec

$$q = \frac{\langle \Phi | T | i \rangle}{\pi V_E^* \langle \psi_E | T | i \rangle}. \quad (\text{B.21})$$





# Annexe C

## Généralités sur les transitions de phase

Ici quelques généralités sont données sur les transitions de phase, afin de donner quelques clefs sur le sujet [8; 25; 96–98; 98–105]. Cette partie a vraiment pour but d'être une toute petite présentation.

D'un point de vue très général, un système procède à une transition de phase lorsque suite à un changement d'un de ses paramètres physique, il peut exister sous une autre forme plus stable. Cependant il faut que sa dynamique l'autorise, ainsi le diamant est une phase non stable du diamant du carbone, mais l'énergie d'activation pour changer d'état est trop importante ainsi le carbone reste sous cet état. Il y a des transitions de phase qui sont claires du point de vue intellectuel, car l'expérimentation donne des résultats qui sont modélisables de façon inconsciente. Quand de l'eau liquide se transforme en glace, la transition est claire. Mais ce terme peut servir de cadre à des changements plus subtils de certains systèmes physiques.

Les transitions de phase sont séparées en différentes classes (méthode habituelle d'approche scientifique au XIX siècle!!). La première classification fut celle d'Ehrenfest [8; 25; 96–98; 98–105] et elle est souvent celle qui reste dans la plupart des esprits. Une transition de phase de premier ordre est une transition au cours de laquelle la dérivée première de l'énergie libre, par rapport à la variable thermodynamique concernée, est discontinue. Et une transition de second ordre verra sa dérivée seconde présenter une discontinuité.

Cette définition n'est pas complète car elle ne prévoit pas des divergences possibles. La définition plus moderne des transitions de phase de premier ordre considère que ces transitions ont lieu quand une chaleur latente est présente, c'est-à-dire soit un apport d'énergie en plus, soit une émission d'énergie, pour permettre le changement de phase à la valeur du paramètre

thermodynamique impliqué. Beaucoup de définitions de transition de phase de premier ordre se contentent d'avoir pour révélateur (de la transition) une discontinuité du paramètre d'ordre du système. Les transitions de phase de second ordre sont considérées comme les transitions continues. Elles se caractérisent par les lois d'échelles à proximité de la transition, avec la plupart des paramètres thermodynamiques qui présentent des comportements en loi de puissance. Enfin la plupart d'entre elles (en fait toutes) sont associées à une rupture spontanée et continue d'une des symétries du système.

Les transitions de second ordre [8; 25; 96–98; 98–105] sont aujourd'hui beaucoup plus étudiées que celles du premier ordre, car la complexité physique inhérente à ces transformations les rend très stimulantes à étudier. Elles sont surtout maintenant associées au concept de classe d'universalité. Les transitions de phase ne sont plus classées par système mais par coefficients critiques, c'est-à-dire les lois de puissances que suivent les paramètres thermodynamiques à l'approche de la transition. Car l'étude a montré que deux systèmes, même infiniment différents, qui présentent les mêmes coefficients critiques ont le même comportement à la transition. Ces notions sont très liées à la très puissante notion de renormalisation. C'est à dire l'étude des auto-similarités des structures à différentes échelles. Les coefficients critiques sont les traces de ces auto-similarités, ils indiquent comment, à toutes les échelles, le système va se comporter. La notion de structure fractale se profile ici ; c'est une autre caractéristique des systèmes en transition de phase de second ordre. L'intervention des groupes de renormalisation permet de mieux comprendre les relations entre les différentes échelles du système à la transition.

# Annexe D

## La percolation

La percolation[8; 25; 96–98; 98–105] est historiquement associée à l'étude des milieux désordonnés, dont une propriété locale peut prendre une valeur de caractère binaire. La structure est ainsi au niveau microscopique un entremêlât de "0" et de "1". Les applications vont de la diffusion du pétrole dans les roches poreuses (arrivée historique de la percolation), à la reptation de polymères, en passant par les feux de forêts ou la conduction dans certains matériaux. La transition de percolation a une nature intrinsèquement géométrique. Pour mieux comprendre, un modèle très simple peut être utilisé, où des sites peuvent être soit noirs soit blancs (figure D.1).

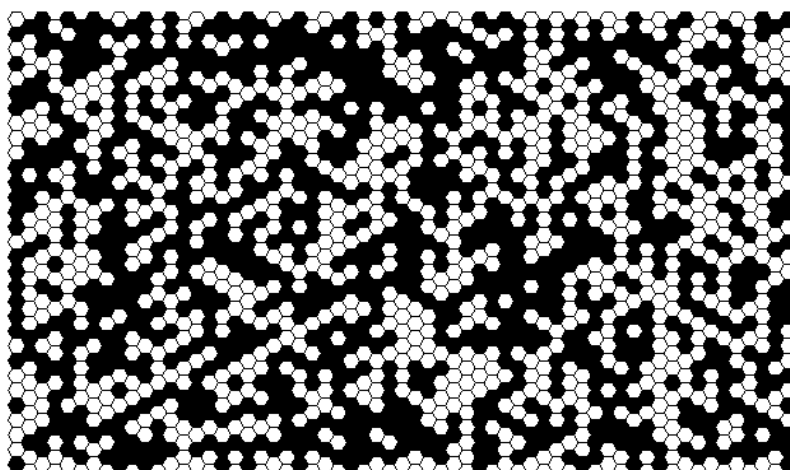


FIG. D.1 – Schéma "type" du système percolant, avec des cases noires et des cases blanches

Sur chacune des cases et de manière indépendante, il y a une probabilité  $p$  que le site soit noir. Cette probabilité sera le seul paramètre. Quand  $p$  augmente, il y a formation d'agrégats,

c'est à dire de groupes de cases noires adjacentes, qui vont grandir, jusqu'à une certaine valeur  $p = p_c$  pour laquelle il y a formation d'un agrégat qui s'étend d'un bout à l'autre du système. Par la suite l'augmentation de  $p$  va faire grandir cet agrégat et lui donner une probabilité d'existence non nulle. Dans la plupart des cas la transition de percolation est une transition de second ordre. Le paramètre d'ordre est défini par :  $P_\infty$ , qui est la probabilité pour un site d'appartenir à un agrégat de taille infinie (ou en pratique s'étendant sur toute la taille du système). Le comportement du paramètre d'ordre est alors :

Pour  $p < p_c$  :

$$P_\infty = 0 \quad (\text{D.1})$$

Pour  $p > p_c$  :

$$P_\infty = (p - p_c)^\beta \quad (\text{D.2})$$

où  $\beta$  est le coefficient critique du paramètre d'ordre. Une autre donnée très caractéristique est la longueur de corrélation  $\xi$  qui caractérise la dimension linéaire des clusters. De façon plus précise elle est définie comme la distance moyenne entre deux sites occupés dans un même cluster. Le comportement de cette longueur de corrélation est donc

$$\xi = |p - p_c|^{-\nu}. \quad (\text{D.3})$$

Et enfin une autre donnée importante qui est reliée dans les systèmes thermodynamiques classiques à la susceptibilité magnétique, est le nombre moyen de sites dans un cluster fini

$$S = |p - p_c|^{-\gamma}. \quad (\text{D.4})$$

Le modèle de percolation ne concerne pas que des sites, elle peut être conçue de la même manière sur un réseau avec la possibilité de faire des liens entre des éléments adjacents du celui-ci. Le traitement sera du même type. Il faut d'un point de vue général comprendre que la beauté du modèle de percolation est de cacher toute la physique dans la géométrie du système, les conditions aux limites s'il y en a et dans la probabilité locale de transition.

Un modèle intéressant est celui de l'arbre de Cayley (ou réseau de Bethe). Il est très beau et cela donne les clefs générales d'un traitement de système percolant avec l'avantage en plus que le système peut-être résolu de façon exacte.

L'arbre de Cayley est construit de la sorte : d'un point du réseau à l'origine,  $z$  (nombre de coordination) branches émergent, et des sites qui sont créés,  $z - 1$  nouvelles branches émergent etc. (figure D.2).

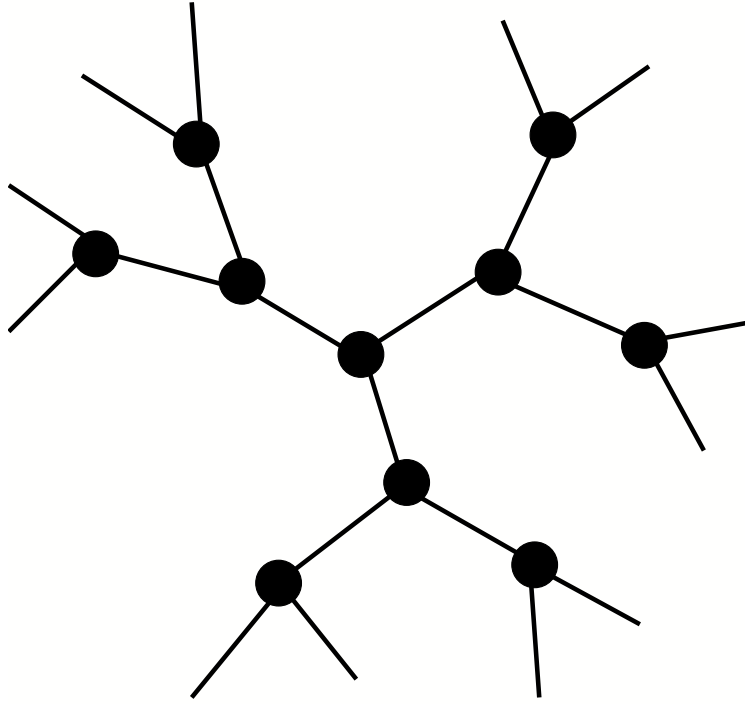


FIG. D.2 – Réseau de Bethe pour  $z=3$ . Il y a des points et des lignes qui les relient. Chaque point a ici trois voisins.

La corrélation radiale  $g(l)$  peut être calculée. Elle est définie comme le nombre moyen de sites occupés dans un cluster de taille  $l$ , par

$$g(l) = z(z-1)^{l-1}p^l = \frac{z}{z-1}(p(z-1))^l = \frac{z}{z-1} \exp(l \cdot \log(p(z-1))). \quad (\text{D.5})$$

Pour  $p(z-1) < 1$  il y a une décroissance exponentielle, et pour  $p(z-1) > 1$  une divergence à  $l$  grand. Alors

$$p_c = \frac{1}{z-1}. \quad (\text{D.6})$$

De plus

$$\xi \propto \frac{-1}{\log(p(z-1))} = \frac{-1}{\log(\frac{p}{p_c})} \propto \frac{1}{p_c - p}. \quad (\text{D.7})$$

Donc  $\nu = 1$ . De plus

$$S = 1 + \sum_{l=1}^{\infty} g(l) = \frac{p_c(1+p)}{p_c - p}, \quad (\text{D.8})$$

et donc  $\gamma = 1$ . La probabilité  $Q$ , qu'un site ne soit pas connecté à un cluster infini, peut aussi être calculée

$$Q = 1 - p + pQ^{z-1}. \quad (\text{D.9})$$

Pour calculer,  $z$  est fixée à 3, donc  $Q = 1$  ou  $Q = \frac{1-p}{p}$ . Donc

$$p_\infty = 1 - Q^3. \quad (\text{D.10})$$

Il y a deux solutions : pour  $Q = 1$ ,  $P_\infty = 0$  ce qui marche pour  $p < p_c$  et pour l'autre avec  $p > p_c$  :

$$p_\infty = 1 - \left(1 - \frac{1-p}{p}\right)^3 \quad (\text{D.11})$$

ce qui donne

$$p_\infty \propto (p - p_c). \quad (\text{D.12})$$

Cela fournit ainsi  $\beta = 1$ . Les autres coefficients peuvent être calculées un peu de la même manière.

Pour conclure le modèle de percolation malgré un grande simplicité apparente est très riche d'enseignement sur la physique du système. De plus grâce à d'habiles raisonnements, des équivalences entre les systèmes percolant et les systèmes thermiques peuvent être établies, offrant ainsi une très grande généralité à ce modèle.

# Bibliographie

- [1] P. Cau, R. Seïte, *Cours de biologie cellulaire*, ellipses, (2002)
- [2] P. Tracqui, J. Demongeot, *Eléments de biologie à l'usage d'autres disciplines de la structure aux fonctions*, Grenobles Sciences, (2003)
- [3] T.M. Cover, J.A. Thomas , *Elements of Information Theory*, Wiley, (2005)
- [4] D.E. Newby, N.R. Grubb, *Cardiologie*, Campus illustré, Elsevier (2006)
- [5] D.L. Bihan, *The "wet mind" : water and fonctionnal neuroimaging*, Phys. Med. Biol. **52**, 57 (2007)
- [6] D. Grischkowsky, S. Keiding, M.v. Exter, and Ch. Fattinger, *Far-infrared time-domain spectroscopy with terahertz beams of dielectrics and semiconductors*, J. Opt. Soc. Am. B **7**, 2006 (1990).
- [7] W. L. Barnes, A. Dereux and T. W. Ebbesen, *Surface plasmon subwavelength optics*, Nature **424**, 824 (2003)
- [8] L.D. Landau, E.M. Lifshitz, *Course of Theoretical Physics volume 7 : Statistical physics, Part 1*, MIR, (1967)
- [9] P.C.M. Planken, H.-K. Nienhuys, H.J. Bakker, T. Wenckebach, *Measurement and calculation of the orientation dependence of terahertz pulse detection in ZnTe*, J. Opt. Soc. Am. B **18**, 313 (2001).
- [10] D.H. Auston, K.P. Cheung, J.A. Valdmanis, D.A. Kleinman *Cherenkov Radiation from Femtosecond Optical Pulses in Electro-Optic Media*, Phys. Rev. Lett. **53**, 1555 (1984).
- [11] M. Born, Emil Wolf, *Principle of Optics, 7th edition*, Cambridge University Press, (2001)



- [12] M.A. Sumbatyan, A. Scalia, *Equations of mathematical diffraction theory*, Chapman and Hall/CRC, (2005)
- [13] V.A. Borovikov, B.Y. Kinber, *Geometrical theory of diffraction*, IEE electromagnetic waves series 37, (1994)
- [14] A. Sommerfeld, *Mathematical theory of diffraction*, Birlhäuser, Progress in Mathematical Physics, (1896)
- [15] J.-P Pérez, R. Carles, R. Fleckinger, *Electromagnétisme, fondements et applications*, Masson Sciences, Dunod, (2002)
- [16] L.-T. Nessi, A. Dubois, *MéthodiX physique-2*, Broché,(2000).
- [17] J.V. Rudd, J.L. Johnson and D.M. Mittleman, *Cross-polarized angular emission patterns from lens-coupled terahertz antennas*, J. Opt. Soc. Am. B **18**, 1524 (2001).
- [18] P.U. Jepsen and S.R. Keiding, *Radiation patterns from lens-coupled terahertz antennas*, Optics Letters **20**, 807 (1995).
- [19] S. Coleman and D. Grischkowskya, *Parallel plate THz transmitter*, App. Phys. Let. **84**, 654 (2004).
- [20] J.-B Masson, G. Gallot, *Terahertz achromatic quarter-wave plate*, Optics Letters **31**, 265 (2006)
- [21] G. Destriau, J. Poutreau, , J. Phys. Radium **8**, 53, (1949).
- [22] F. Hache, H. Mesnil, and M. C. Schanne-Klein, *Nonlinear circular dichroism in a liquid of chiral molecules : A theoretical investigation*, Phys. Rev. B **60**, 6405 (1999).
- [23] C.M. Bender, S.A. Orszag, *advanced mathematical methods for scientist and engineers*, Springer, (1999)
- [24] W. Appel, *Mathématiques pour la physique et les physiciens*, H&K (Paris), (2002)
- [25] L.D. Landau, E.M. Lifshitz, *Course of Theoretical Physics volume 7 : Statistical physics, Part 2*, MIR, (1973)

- 
- [26] D.M. Wood, N.W. Ashcroft *Quantum size effects in the optical properties of small metallic particles*, Phys. Rev. B **25**, 6255 (1982).
- [27] K. Kythe, D. Wei, *An introduction to linear and nonlinear finite element analysis, a computational approach*, Birkhäuser (2003).
- [28] J.L. Volakis, A. Chatterjee, L.C. Kempel, *Finite element methods for electromagnetics*, IEEE Press Birkhäuser (1998).
- [29] M. Ohtsu, K. Kobayashi, *Optical near fields*, Springer, (2003).
- [30] J.-B Masson, G. Gallot, *True near field versus contrast near field imaging*, Optics Express **14**, 11566 (2006)
- [31] J.-B Masson, G. Gallot, *True near field versus contrast near field imaging. II. Imaging with a probe*, Optics Express **15**, 3078 (2007)
- [32] J.-B Masson, M.-P Sauviat, J.-L Martin, G. Gallot, *Ionic contrast terahertz near-field imaging of axonal water fluxes*, PNAS **103**, 4808 (2006)
- [33] H.A. Bethe, *Theory of diffraction by small Holes*, Phys. Rev. **66**, 163 (1944).
- [34] C.J. Bouwkamp *On Bethe's theory of diffraction by small holes*, Phyllips Research Reports **5**, 312 (1950).
- [35] J. A. Stratton and L. J. Chu, *Diffraction Theory of Electromagnetic Waves*, Phys. Rev. **56**, 99, (1939)
- [36] W. Nultsch, *Botanique générale*, DeBoeck Université, Thieme Verlag (1997)
- [37] B.G. Pickard, *Electrical signals in higher plants*, Naturwissenschaften **61**, 60, (1974)
- [38] E. Pickwell, and V.P. Wallace, *Biomedical applications of terahertz technology*, J. Phys. D : Appl. Phys. **39**, R301 (2006)
- [39] D. Purves, G.J. Augustine, D. Fitzpatrick, W.C. Hall, A.-S. Lamantia, J.O. McNamara, S.M. Williams, *Neurosciences*, Sinauer Associates, Inc, Publishers Sunderland, Massachusetts U.S.A (2004)

- [40] A.K.N. Reddy, J.O'M. Bockris, *Modern electrochemistry : an introduction to interdisciplinary area*, Springer, (1973).
- [41] A.K.N. P. Debye, *Polar molecules*, New York, dover publications (1929).
- [42] L.D. Landau, E.M. Lifshitz, L.P. Pitaevskii, *Electrodynamics of continuous media*, Elsevier, (2006).
- [43] A. Esztermann, R. Messina and H. Löwen, *Localisation-delocalisation transition of electrolytes between micro-electrodes*, Eur. Phys. Lett. **73**, 864 (2006).
- [44] W.H. Press, S.A. Teukolsky, W.T. Vetterling, B.P. Flannery, *Numerical recipes in c*, chapitre 17, Cambridge university press, (1992)
- [45] M.S. Kilic, M.Z. Bazant, A. Ajdari, *Steric effects in the dynamics of electrolytes at large applied voltages :I. Double-layer charging*, arXiv :physics/0611030 v1 2 Nov 2006.
- [46] M.S. Kilic, M.Z. Bazant, A. Ajdari, *Steric effects in the dynamics of electrolytes at large applied voltages :II. Modified Poisson-Nernst-Planck equations*, arXiv :physics/0611232 v1 23 Nov 2006.
- [47] M.Z. Bazant, K. Thornton and A. Ajdari, *Diffuse-Charge Dynamics in Electrochemical Systems*, arXiv :physics/0401118 v1 8 Jan 2004.
- [48] W.H. Press, S.A. Teukolsky, W.T. Vetterling, B.P. Flannery, *Numerical recipes in c*, chapitre 19, Cambridge university press, (1992)
- [49] D. Tritsch, D. Chesnoy-Marcadis, and A. Feltz, *Physiologie du neurone*, edition Doin,(1998)
- [50] R.Y. Tsien, and T. Pozzan, *Measurement of cytosolic free  $Ca^{2+}$  with Quin-2*, Methods in Enzymol. **172**, 230, (1989).
- [51] G. Grynkiewicz, and M. Poenie, *A new generation of  $Ca^{2+}$  indicators with greatly improved fluorescence properties*, J. Biol. Chem. **260**, 3440, (1985).
- [52] A. Minta, J.P.Y. Kao and R.Y. Tsien, *Fluorescent indicators for cytosolic calcium based on rhodamine and fluorescein chromophores*, J. Biol. Chem. **264**, 8171, (1989).

- [53] P.F. Millington, D.R. Critchley, and P.W.A. Tovell, *The role of calcium in the isolation of brush borders from the epithelial cells of rat intestine*, J. Cell Sci. I, p415 (1966).
- [54] M. Dahan, S. Lévi, C. Luccardini, P. Rostaing, B. Riveau and A. Triller, *Diffusion dynamics of glycine receptors revealed by single quantum dot tracking*, Science **302**, 442 (2003).
- [55] M. Feierabend, M. Rückel, and W. Denk, *Coherence-gated wave-front sensing in strongly scattering samples*, Optics Letters **29**, 2255 (2004)
- [56] M. Rueckel, J.A. Mack-Bucher, and W. Denk, *Adaptive wavefront correction in two-photon microscopy using coherence-gated wavefront*, Science **302**, PNAS, published online Nov 6, (2006)
- [57] P.N. Marsh, D. Burns, and J.M. Girkin, *Practical implementation of adaptive optics in multiphoton microscopy*, Science **302**, Optics Express **11**, p1123 (2003)
- [58] P.W. Atkins, and J. de Paula, *Chimie Physique*, De Boeck, (2004)
- [59] D.A. Skoog, F.J. Holler, and T.A. Nieman, *Principe d'analyse instrumentale*, De Boeck, (2003)
- [60] M. Balerna, M. Fosset, R. Chicheportiche, G. Romey, M. Lazdunski, , Biochemistry **14**, 5500 (1975)
- [61] M. F. Marmor, , Prog. Neurobiol. **5**, 167 (1975)
- [62] M.-P. Sauviat, M. Marquais, and J.-P. Vernoux, , Toxicol **40** 1155 (2002)
- [63] J.-B Masson, M.-P Sauviat, G. Gallot, *Ionic contrast terahertz time resolved imaging of frog auricular heart muscle electrical activity*, Applied Physics Letters **89**, 153904 (2006)
- [64] M.-P. Sauviat, R.B.-L. Garrec, J.-B. Masson, R.L. Lewis, J.-P. Vernoux, J. Molgoe, D. Laurent, E. Benoit *Mechanisms involved in the swelling of erythrocytes caused by Pacific and Caribbean ciguatoxins*, Blood Cells Molecules and Diseases **36**, (2006)
- [65] E. Ozbay, *Plasmonic : merging photonics and electronics at nanoscale dimensions*, Science **311** 189 (2006)

- [66] S. I. Bozhevolnyi, V. S. Volkov, E. Devaux, J.-Y. Laluet and T. W. Ebbesen, *Channel plasmon subwavelength waveguide components including interferometers and ring resonators*, Nature **440**, 508 (2006)
- [67] S.I. Bozhevolnyi, V.S. Volkov, E. Devaux, J.-Y Laluet and T. Ebbesen *Channel plasmon subwavelength waveguide components including interferometers and ring resonators*, Nature, **440**, 508 (2006)
- [68] J. Gomez Rivas, C. Schotsch, P. Haring Bolivar, and H. Kurz, *Enhanced transmission of THz radiation through subwavelength holes*, Phys. Rev. B **68**, 201306 (2003)
- [69] D. Qu, D. Grischkowsky, W. Zhang, *Terahertz transmission properties of thin, subwavelength metallic hole arrays*, Opt. Lett. **29**, 896 (2004)
- [70] W.L. Barnes, A. Dereux, T.W. Ebbesen, *Surface plasmon subwavelength optics*, Opt. Lett. **424**, 824 (2003)
- [71] D. Crouse and P. Keshavareddy, *Role of optical and surface plasmon modes in enhanced transmission and applications*, Opt. Exp. **13**, 7760 (2005)
- [72] H. Raether, *Surface Plasmons*, Springer-Verlag, Berlin, (1988)
- [73] W. H. Eggimann and R. E. Collin, *Electromagnetic diffraction by a planar array of circular disks*, IRE Trans. Microwave Theory Tech. **10**, 528 (1962)
- [74] C.C. Chen, *Diffraction of electromagnetic waves by a conducting screen perforated periodically with circular holes*, IEEE Trans. Microwave theory Tech. **19**, 475 (1971)
- [75] S.A. Darmanyan and A.V. Zayats, *Light tunneling via resonant surface plasmon polariton states and the enhanced transmission of periodically nanostructured metal films : An analytical study*, Phys. Rev. B **67**, 035424 (2003)
- [76] K. G. Lee and Q.-H. Park, *Coupling of Surface Plasmon Polaritons and Light in Metallic Nanoslits*, Phys. Rev. Lett. **95**, 103902 (2005)
- [77] W. Srituravanich, S. Durant, H. Lee, C. Sun, and X. Zhanga, *Deep subwavelength nanolithography using localized surface plasmon modes on planar silver mask*, J. Vac. Sci. Technol. B **23**, 2636 (2005)

- [78] S. V. Kukhlevsky, M. Mechler, L. Csapo, K. Janssens, and O. Samek, *Enhanced transmission versus localization of a light pulse by a subwavelength metal slit*, Phys. Rev. B **70**, 195428, (2004)
- [79] G. Gay, O. Alloschery, B.V.D. Lesegno, C. O'Dwyer, J. Weiner and H.J. Lezec, *The optical response of nanostructured surfaces and the composite diffracted evanescent wave model*, Nature Physics **2**, 262 (2006)
- [80] P. Lalanne and J.P. Hugonin, *Interaction between optical nano-objects at metallo-dielectric interfaces*, Nature Physics **2**, 551 (2006)
- [81] M.W. Kowartz, *Homogeneous and evanescent contribution in scalar near field diffraction*, Appl. Opt. **34**, 3055 (1995)
- [82] E. Silberstein, P. Lalanne, J.P. Hugonin, Q. Cao, *On the use of grating theory in integrated optics*, J. Opt. Soc. Am. A. **18**, 2865 (2001)
- [83] M. Sarrazin, *role of Wood anomalies in optical properties of thin metallic films with a bidimensional array of subwavelength holes*, Phys. Rev. B **67**, 085415 (2003)
- [84] X. Jiao, P. Wang, L. Tang, Y. Lu, Q. Li, D. Zhang, P. Yao, H. Ming and J. Xie, *Fabry-Pérot-like phenomenon in the surface plasmons resonant transmission of metallic gratings with very narrow slits*, Applied Physics B : Lasers and Optics **80**, 301, (2005)
- [85] S.-H. Chang, S. Gray, and G. Schatz, *Surface plasmon generation and light transmission by isolated nanoholes and arrays of nanoholes in thin metal films*, Optics Express **13**, 3150 (2005)
- [86] A. Taflove and S.C. Hagness, *Computational Electrodynamics : The Finite-Difference Time-Domain Methods*, Artech House Publishers, (2005)
- [87] J. A. Porto et al., *Transmission Resonances on Metallic Gratings with Very Narrow Slits*, Phys. Rev. Lett. **83**, 2845 (1999)
- [88] M. M. J. Treacy, *A dynamical diffraction explanation of the anomalous transmission of light through metallic hole arrays*, Phys. Rev. B **66**, 195105 (2002).

- [89] U. Fano, *Effects of configuration interaction on intensities and phase shifts*, Physical Review **124**, 1866 (1961)
- [90] C. Genet, M.P.V. Exter, J.P. Woerdman, *Fano-Type interpretation of red shifts and red tails in hole array transmission spectra*, Optics communication **225**, 331 (2003)
- [91] A. E. Miroschnichenko, S. F. Mingaleev, S. Flach, Y.S. Kivshar, *Nonlinear Fano resonance and bistable wave transmission*, Phys. Rev. E **71**, 036626 (2005)
- [92] T.K. Fang, T.N. Chang, *Determination of profile parameters of a Fano resonance without an ultrahigh-energy resolution*, Phys. Rev. A **57**, 4420 (1998)
- [93] C.C. Tannoudji, B. Diu, F. Laloë, *Mécanique quantique*, Hermann ,(1998)
- [94] J.-B Masson, G. Gallot, *Coupling between surface plasmons in subwavelength hole arrays*, Physical Review B **73**, 121401 (2006)
- [95] J.-B Masson, G. Gallot, *Experimental evidence of percolation phase transition in surface plasmons generation*, arXiv :cond-mat/0611280 v1 10 Nov 2006
- [96] F. Schawbl, *Statistical Mechanics*, Springer ,(2000)
- [97] I. Prigogine, D. Kondepudi, *Thermodynamique, des moteurs thermiques aux structures dissipatives*, Odile Jacob ,(1999)
- [98] D. Stauffer, A. Aharony, *Introduction to percolation theory*, CRC, (2000)
- [99] H.E. Stanley, *Introduction to phase transitions and critical phenomena*, Oxford science publications (1971)
- [100] A. Lesne, *Méthodes de renormalisation*, Eyrolles sciences (2005)
- [101] M. le Bellac, F. Mortessagne, G.G. Batrouni, *Equilibrium and non-equilibrium statistical thermodynamics*, Cambridge University Press (2004)
- [102] W. Ebeling, I.M. Sokolov, *Statistical thermodynamics and stochastic theory of nonequilibrium systems*, World Scientific (2005)
- [103] J. Zinn-Justin, *Transition de phase et groupe de renormalisation*, CNRS editions, EDP Sciences (2005)

- [104] C. Itzykson, and J.-M. Drouffe, *Théorie statistique des champs 1*, CNRS editions, EDP Sciences (1989)
- [105] C. Itzykson, and J.-M. Drouffe, *Théorie statistique des champs 2*, CNRS editions, EDP Sciences (1989)
- [106] T. Matsui, A. Agrawal, A. Nahata, and Z.V. Vardeny, *Transmission resonances through aperiodic arrays of subwavelength apertures*, Nature **446**, 517 (2007)
- [107] J.-B Masson, G. Gallot, *Extra energy coupling through subwavelength hole arrays via stochastic resonance*, arXiv :0704.3945v1 [cond-math.other] 30 Apr 2007
- [108] R. Benzi, G. Parisi, A. Sutera, A. Vulpiani, , Tellus **34**, No. 10 (1982)
- [109] B. McNamara, K. Wisenfeld, *Theory of stochastic resonance*, Phys. Rev. A **39**, 4854 (1989)
- [110] A.I. Olenski, *Non linear theory of stochastic resonance*, arXiv : condmat/0105516 v1 27 mai 2007
- [111] S. Herrmann, P. Imkeller and D. Peithmann, *Large deviations and stochastic resonance*, Geophysical Research Abstracts **7** 10967 (2005)
- [112] I. Goychuk, P. Hänggi, *Non-Markovian Stochastic Resonance*, arXiv :condmat/0303413 v2 24 sep 2003
- [113] J.A. Revelli, A.D. Sanchez, and H.S. Wio, *Effect of Non Gaussian Noises on the Stochastic Resonance-Like Phenomenon in Gated Traps*, arXiv :condmat/0109454 v1 25 sep 2001
- [114] J.A. Revelli, A.D. Sanchez, and H.S. Wio, *Stochastic resonance for two competing species in the presence of colored noise*, arXiv :condmat/0310587 v1 24 oct 2003
- [115] G. Schmid, I. Goychuk, and P. Hänggi, *Stochastic resonance as a collective property of ion channel assemblies*, arXiv :condmat/0106036 v1 12 juin 2001
- [116] M. Kuperman<sup>1</sup>, and D. Zanette<sup>1</sup>, *Stochastic resonance in a model of opinion formation on small-world networks*, arXiv :condmat/0111289 v1 15 Nov 2001



- [117] D. Babi, C. Schmitt, I. Poberaj and C. Bechinger<sup>1</sup>, *Stochastic resonance in colloidal systems*, Europhys. Lett. **67** 158 (2004)
- [118] L. Gammaitoni, P. Hänggi, P. Jung and F. Marchesoni, *Stochastic resonance*, Review of Modern Physics **70**, 223 (1998)
- [119] E.R. Malinowxhi, D.G. Howery, *Factor analysis in chemistry*, Wiley, New York, (1980)
- [120] M.T. Buelow, B. Immaraporn, and A.J. Gellman, *The Transition State for Surface-Catalyzed Dehalogenation : CI Cleavage on Pd(111)*, Journal of Catalysis **203** 41 (2001)
- [121] P. G. de Gennes, *Wetting : statics and dynamics* , Rev. Mod. Phys. **57**, 827 (1985)
- [122] R. Castaing, *Application des sondes électroniques à une méthode d'analyse ponctuelle chimique et cristallographique*, thèse de doctorat d'état, Publication ONERA N. 55, (1952)
- [123] R. Castaing, and J. Descamps, *Sur les bases physiques de l'analyse ponctuelle par spectrographie X.*, J. Phys. (Paris), **16**, 304 (1955).
- [124] R. Castaing, J. Philibert, and C. Crussard, *Electron probe microanalysis and its applications to ferrous metallurgy*, J Metals, **9**, 389 (1957).
- [125] E. Neher, B. Sakmann, *The patch clamp technique.*, Sci Am. **266**, 44 (1992)
- [126] L.V. Kochian, J.E. Shaff, W.M. Kühtreiber, L.F. Jaffe and W.J. Lucas, *Use of an extracellular, ion-selective, vibrating microelectrode system for the quantification of K<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>, and Ca<sup>2+</sup> fluxes in maize roots and maize suspension cells*, Planta **188**, 601 (1992)

# Terahertz achromatic quarter-wave plate

Jean-Baptiste Masson and Guilhem Gallot

Laboratoire d'Optique et Biosciences, CNRS UMR 7645, INSERM U696, École Polytechnique, 91128 Palaiseau, France

Received August 30, 2005; revised October 11, 2005; accepted October 14, 2005

Phase retarders usually present a strong frequency dependence. We discuss the design and characterization of a terahertz achromatic quarter-wave plate. This wave plate is made from six birefringent quartz plates precisely designed and stacked together. Phase retardation has been measured over the whole terahertz range by terahertz polarimetry. This achromatic wave plate demonstrates a huge frequency bandwidth ( $\nu_{\max}/\nu_{\min} \approx 7$ ), and therefore can be applied to terahertz time domain spectroscopy and polarimetry. © 2006 Optical Society of America

OCIS codes: 260.5430, 260.3090, 230.5440, 260.1440.

The terahertz (THz) frequency range, located midway between microwaves and infrared light, presents a new frontier containing numerous technical applications and fundamental research problems. It has become a popular domain in spectroscopy and imaging, mostly using single-cycle electromagnetic pulses and time domain spectroscopy.<sup>1</sup> As a result of the increasing importance of this technique, much interest has been applied to characterizing the THz beams: divergence, spatial or frequency modes, and profiles. However, polarization has been much less studied. The key elements in polarimetry techniques are polarization converters and wave plates, but they usually depend on wavelength, and THz time domain spectroscopy has to deal with an ultrabroadband frequency range, sometimes exceeding a decade.<sup>2</sup> Then, THz achromatic wave plates are a prerequisite to designing precision polarimeters.

Standard birefringent wave plates made from birefringent materials can be used only at a single wavelength, since the retardation strongly depends on the wavelength.<sup>3</sup> Achromatic phase retarders can be designed on the basis of several techniques. Achromatic dephasing properties of total reflection can be used in Fresnel rhombs<sup>3</sup> or total reflection prisms,<sup>4</sup> but the systems are voluminous and often exhibit strong lateral shifts. Form birefringence of gratings<sup>5,6</sup> and liquid crystals<sup>7</sup> have also been used in the visible range; the combination of two wave plates of different materials can allow partial cancellation between the

dispersion of the two materials.<sup>8</sup> However, the resulting bandwidth is still too narrow for application in THz time domain spectroscopy.

In this Letter we show the design and experimental demonstration of a THz achromatic quartz (TAQ) quarter-wave plate that is insensitive to the wavelength for almost a decade. The design of the TAQ wave plate is based on the idea from Destriau and Prouteau.<sup>9</sup> Combining a standard half-wave plate and a standard quarter-wave plate, they succeeded in creating a new quarter-wave plate ( $\pi/2$  dephasing), extending the bandwidth of the resulting retardation plate in the whole visible range. Later, this combination was applied to a variety of crystals and wavelengths.<sup>10–12</sup> The key feature is the partial cancellation of the change of retardation from each plate with respect to the frequency. To achieve the much larger bandwidth required to handle ultrashort THz pulses, we extended the design to a combination of up to six quartz plates. Quartz is reasonably transparent in the THz range,<sup>2</sup> with an amplitude absorption at 1 THz below  $0.05 \text{ cm}^{-1}$ . Quartz also exhibits strong birefringence: ordinary and extraordinary refractive indices are  $n_o = 2.108$  and  $n_e = 2.156$ , respectively, at 1 THz. Amplitude absorption anisotropy  $\alpha_o - \alpha_e$  remains below  $0.02 \text{ cm}^{-1}$  and has a negligible influence on retardation. The quartz plates are cut parallel to the optical axis and stacked together to form a unique wave plate. Each plate is described by its corresponding Jones matrix  $J_i$  ( $i = 1 - n$ ),<sup>13</sup>

$$J_i(\delta_i, \theta_i) = \begin{bmatrix} \cos \delta_i/2 + i \cos 2\theta_i \sin \delta_i/2 & i \sin 2\theta_i \sin \delta_i/2 \\ i \sin 2\theta_i \sin \delta_i/2 & \cos \delta_i/2 - i \cos 2\theta_i \sin \delta_i/2 \end{bmatrix},$$

which depends on two parameters: the dephasing  $\delta_i = e_i(n_e - n_o)\nu/c$  and the orientation  $\theta_i$  with respect to the optical axis. This leads to  $2n$  independent parameters. The total Jones matrix is given by<sup>14</sup>

$$J = \prod_i J_i = \begin{pmatrix} A & B \\ -B^* & A^* \end{pmatrix},$$

**Table 1. Calculated Thickness and Orientation of Quartz Plates 1–6**

	1	2	3	4	5	6
Thickness (mm)	3.36	6.73	6.46	3.14	3.33	8.43
Angle (deg)	31.7	10.4	118.7	24.9	5.1	69.0

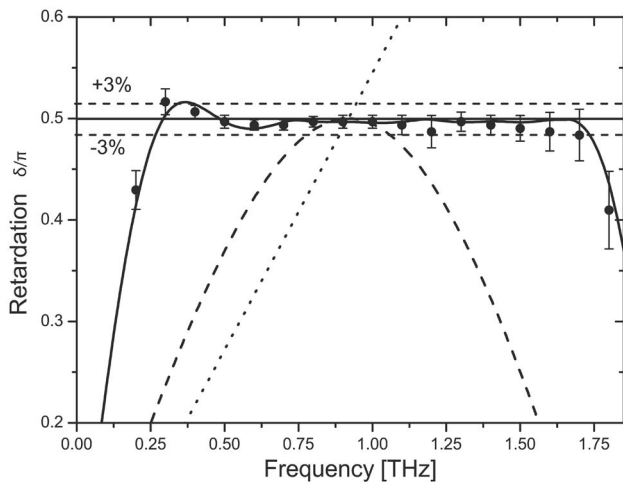


Fig. 1. Frequency dependence retardation of standard and TAQ quarter-wave plates. Relative bandwidth  $\delta\nu/\nu$  is given at 3% bandwidth (horizontal lines). Comparison with a standard birefringent wave plate (dotted curve); two-plate combination (dashed curve) and the six-plate TAQ wave plate (solid curve, calculation; filled circles, data).

and the resulting retardation dephasing  $\delta$  is obtained by

$$\tan^2 \frac{\delta}{2} = \frac{|\text{Im } A|^2 + |\text{Im } B|^2}{|\text{Re } A|^2 + |\text{Re } B|^2}.$$

By use of a simulated annealing algorithm,<sup>15</sup> the parameters of the  $n$  quartz plates have been optimized to minimize the error function  $\sum_{\nu} [\delta(\nu) - \pi/2]^2$  over the frequency range of 0.2–2 THz, including the frequency dependence of the refractive indices. We performed simulations for any combination of up to seven plates. As expected, the available bandwidth is extended with the number of plates. Our experimental THz range was already covered by a combination of six plates, which is a good compromise between the available bandwidth and the total thickness of the achromatic wave plate. The calculated thickness and orientation for the six quartz plates are given in Table 1. The result obtained with the combination of the six plates, depicted in Fig. 1 (solid curve), shows remarkably large retardation stability over the whole THz range. The bandwidth at 3% from ideal  $\pi/2$  dephasing extends from 0.25 to 1.75 THz. The total thickness of the TAQ wave plate is 31.4 mm, corresponding to an amplitude transmission at 1 THz measured to be equal to 74%. Each plate is designed with a thickness precision of better than 10  $\mu\text{m}$ , and the relative angular adjustment between the plates is better than  $1^\circ$  to maintain the high quality of the wave plate. The 30 mm diameter plates are stacked together at visible optical contact without any cement, and in this case no reflection occurs at the in-

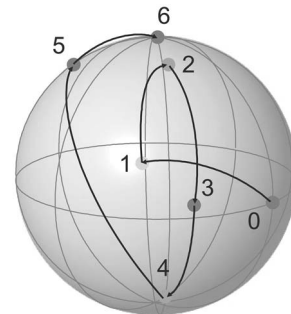


Fig. 2. Poincaré sphere representation of polarization state evolution through the six quartz plates of the TAQ wave plate. When the incident polarization (0) is linear, the polarization output of the TAQ wave plate (6) is circular.

terface between the plates. Angular acceptance of the retarder has been found to be  $\pm 1.5^\circ$  at a 3% change of dephasing, which is typical for plate retarders.<sup>12</sup> Representation of the evolution of the polarization state through the quartz plates is done by a Poincaré sphere.<sup>3</sup> Figure 2 shows the case of a linearly polarized incident wave (0) that undergoes six polarization state transitions (1  $\rightarrow$  5) before exiting as a circularly polarized light (6). When frequency varies, the dephasing of each individual plate changes. The corresponding points (1)–(5) on the Poincaré sphere then move, but the final polarization state (6) remains perfectly circular, as expected from an achromatic quarter-wave plate.

To measure the retardation of the TAQ wave plate in the THz range, we developed a new technique of ellipsometry by using rotating linear polarizers. This technique allows a precise determination of the retardation and orientation of the wave plate without moving the detecting antenna. In our experiment [see Fig. 3(A)], we generate and coherently detect broadband polarized single-cycle pulses of THz radiation by illuminating photoconductive antennas with two synchronized 80 fs laser pulses.<sup>16</sup> The incident THz beam is modulated by a chopper, and a lock-in amplifier detects the current induced by the transmitted THz radiation in the detector. A delay line allows us to scan the amplitude of the electric field. The TAQ wave plate and the two polarizers used for polarimetry are positioned between two steering paraboloid mirrors that produce a parallel 15 mm waist frequency-independent THz beam. A linearly polarized electric field  $E_0$  is sent through the wave plate to be investigated. The exiting electric field  $E$  carries out information on the wave plate as

$$\underline{E} = a \cos(\omega t)\mathbf{x} + b \cos(\omega t + \delta)\mathbf{y}, \quad (1)$$

where  $a$ ,  $b$ , and  $\delta$ , the ellipticity parameters, directly refer to the retardation and orientation of the wave

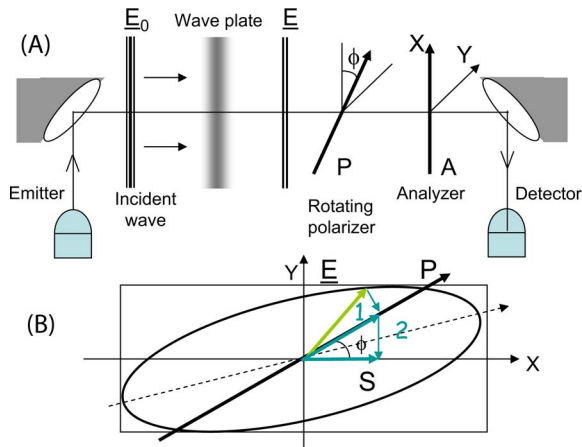


Fig. 3. (Color online) (A) Setup for polarimetry measurements of the wave plate. (B) Projection of the electric field  $E$  on the rotating polarizer and fixed analyzer gives the measured signal  $S(\phi)$ .

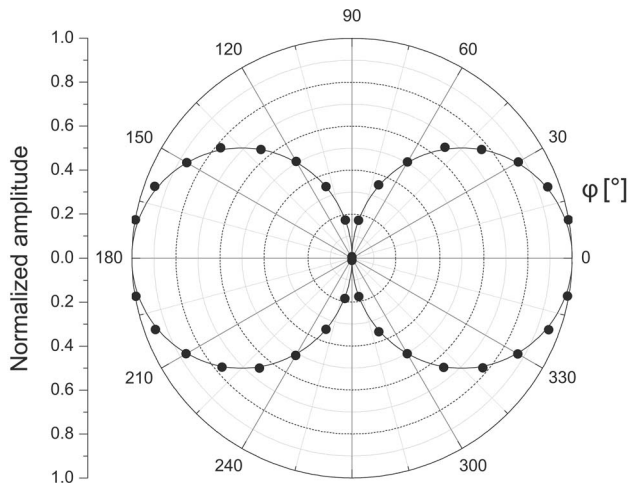


Fig. 4. Normalized amplitude of the signal from polarimetry measurements versus the angle  $\phi$  of the fixed polarizer in polar coordinates. The spectral component is at 1 THz. Filled circles, data; solid curve, theoretical fit.

plate. Then two linear THz polarizers are used [Fig. 3(A)]. The first polarizer, oriented at an angle  $\phi$  with respect to  $\mathbf{x}$ , is followed by a fixed polarizer along  $\mathbf{x}$ , called the analyzer. Considering the general case of the incident wave exiting from the wave plate, the two polarizers perform two successive projections of the electric field, along the polarizer and analyzer directions,  $\phi$  and  $\mathbf{x}$ , respectively [see Fig. 3(B)]. One easily obtains the amplitude  $S(\phi)$  of the resulting electric field:

$$S(\phi) = \cos \phi [(a \cos \phi + b \sin \phi \cos \delta)^2 + (b \sin \phi \sin \delta)^2]^{1/2}. \quad (2)$$

The ellipticity parameters are obtained by recording  $S$  versus the angle of the polarizer  $\phi$ . Spatial cases of linear (along  $\mathbf{x}$ ) and circular waves give  $S(\phi) = a \cos^2(\phi)$  and  $S(\phi) = a \cos \phi$ , respectively. In our

experiment the signal has been recorded in steps of  $10^\circ$  of the polarizer angle  $\phi$ , leading to 36 scans. Then, spectral data have been achieved by Fourier transform of the temporal scans. A typical result is presented in Fig. 4. The data (solid circles) are in excellent agreement with the theoretical fit from Eq. (2) (solid curves), with a dephasing of  $\pi/2$ . The total dephasing is then extracted for each frequency. Experimental dephasing of the six-plate quartz TAQ wave plate is depicted in Fig. 1 (solid circles) from 0.2 to 1.8 THz. Agreement with the theoretical curve from the Jones matrices calculation is very good. Note the increase of the measurement uncertainty at both ends of the spectrum as a result of the drop of the reference signal. The 3% bandwidth of the TAQ wave plate extends from 0.25 to 1.75 THz, centered around 0.92 THz, representing a factor  $\nu_{\max}/\nu_{\min} = 7$  in frequency expansion. In relative bandwidth  $\delta\nu/\nu$ , this wave plate covers more than 160%, which is 25 times bigger than for a standard quarter-wave plate.

In conclusion, we have designed and characterized by polarimetry a terahertz achromatic quartz quarter-wave plate. The TAQ wave plate, made from six quartz plates precisely adjusted and stacked together, exhibits a huge bandwidth that covers the entire spectrum required for THz time domain spectroscopy.

We thank Daniel R. Grischkowsky and R. Alan Cheville for the generous donation of the THz antenna used for this work, and we also thank Claude Hamel for the excellent quartz plates fabrication.

## References

1. D. Middleman, *Sensing with Terahertz Radiation*, Springer Series in Optical Sciences (Springer, 2003).
2. D. Grischkowsky, S. R. Keiding, M. van Exter, and C. Fattinger, *J. Opt. Soc. Am. B* **7**, 2006 (1990).
3. M. Born and E. Wolf, *Principles of Optics*, 6th ed. (Cambridge University Press, 1997).
4. R. M. A. Azzam and C. L. Spinu, *J. Opt. Soc. Am. A* **21**, 2019 (2004).
5. N. Bokor, R. Shechter, N. Davidson, A. A. Friesem, and E. Hasman, *Appl. Opt.* **40**, 2076 (2001).
6. G. P. Nordin and P. C. Deguzman, *Opt. Express* **5**, 163 (1999).
7. S. Shen, J. She, and T. Tao, *J. Opt. Soc. Am. A* **22**, 961 (2005).
8. J. M. Beckers, *Appl. Opt.* **10**, 973 (1971).
9. G. Destriau and J. Prouteau, *J. Phys. Radium* **8**, 53 (1949).
10. P. Hariharan, *Opt. Eng.* **35**, 3335 (1996).
11. B. Boulbry, B. Bousquet, B. L. Jeune, Y. Guern, and J. Lotrian, *Opt. Express* **9**, 225 (2001).
12. J. M. Beckers, *Appl. Opt.* **11**, 681 (1972).
13. R. C. Jones, *J. Opt. Soc. Am.* **31**, 488 (1941).
14. H. Hurwitz and R. C. Jones, *J. Opt. Soc. Am.* **31**, 493 (1941).
15. W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, and B. P. Flannery, *Numerical Recipes in C* (Cambridge U. Press, 1992).
16. C. Fattinger and D. Grischkowsky, *Appl. Phys. Lett.* **54**, 490 (1989).

## Mechanisms involved in the swelling of erythrocytes caused by Pacific and Caribbean ciguatoxins

Martin-Pierre Sauviat<sup>a,\*</sup>, Raphaële Boydron-Le Garrec<sup>a,b</sup>, Jean-Baptiste Masson<sup>a</sup>,  
Richard L. Lewis<sup>c</sup>, Jean-Paul Vernoux<sup>d</sup>, Jordi Molgó<sup>e</sup>, Dominique Laurent<sup>b</sup>, Evelyne Benoit<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire d'Optique et Biosciences, INSERM U696, UMR CNRS 7645, X/ENSTA, Ecole Polytechnique, route de Saclay, 91128 Palaiseau Cedex, France

<sup>b</sup> Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles et Pharmacophores Redox, UMR 152, IRD-Université Paul Sabatier, Centre IRD de Nouméa, BP A5, 98848 Nouméa, New Caledonia

<sup>c</sup> School of Biomedical Sciences, The University of Queensland, Brisbane, Australia

<sup>d</sup> Laboratoire de Microbiologie Alimentaire, USC INRA, Université de Caen Basse-Normandie, Esplanade de la Paix, 14032 Caen Cedex, France

<sup>e</sup> Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire, UPR 9040, Institut Fédératif de Neurobiologie Alfred Fessard, CNRS, bât. 32, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France

Submitted 26 October 2005; revised 26 October 2005

(Communicated by J. Hoffman, M.D., 27 October 2005)

### Abstract

The mechanisms underlying the swelling of frog red blood cells (RBC), induced by Pacific (P-CTX-1) and Caribbean (C-CTX-1) ciguatoxins (CTXs), were investigated by measuring the length, width and surface of their elliptic shape. P-CTX-1 (0.5 to 5 nM) and C-CTX-1 (1 nM) induced RBC swelling within 60 min. The CTXs-induced RBC swelling was blocked by apamin (1  $\mu$ M) and by  $\text{Sr}^{2+}$  (1 mM). P-CTX-1-induced RBC swelling was prevented and inhibited by H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (27  $\mu$ M), an inhibitor of soluble guanylate cyclase (sGC), and NOS blockade by NG methyl-L-arginine (L-NMA; 10  $\mu$ M). Cytochalasin D (cytD, 10  $\mu$ M) increased RBC surface and mimicked CTX effect but did not prevent the P-CTX-1-induced L-NMA-sensitive extra increase. Calculations revealed that P-CTX-1 and cytD increase RBC total surface envelop and volume. These data strongly suggest that the molecular mechanisms underlying CTXs-induced RBC swelling involve the NO pathway by an activation of the inducible NOS, leading to sGC activation which modulates intracellular cGMP and regulates L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels. The resulting increase in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  content, in turn, disrupts the actin cytoskeleton, which causes a water influx and triggers a  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  current through SK2 isoform channels.

© 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Ciguatoxins; Red blood cells; Cell swelling; L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels; Nitric oxide; Nitric oxide synthase; Soluble guanylate cyclase; Cytochalasin D

### Introduction

Ciguatoxins (CTXs) are lipid-soluble cyclic polyethers that are produced by toxic forms of the dinoflagellates *Gambierdiscus* spp. These toxins are responsible for ciguatera, a human distinctive form of ichthyosarcotoxism acquired by eating contaminated species of fish thought to be caused by blood poisoning by local people and characterized by gastrointestinal, neurological and cardiovascular disorders [1,2]. Presently, no specific therapy for ciguatera has been identified.

However, the first activity assessment of some plants extracts, traditionally used to fight this disease, reveals that 27 plant extracts exert, *in vitro*, a protective effect [3]. CTXs prolong the  $\text{Na}^{+}$  influx via the activation of voltage-dependent  $\text{Na}^{+}$  channels, which remain open at the resting membrane potential instead of being maintained in a closed state (see [4] for review). As a consequence of this long lasting  $\text{Na}^{+}$  influx, swelling of nodes of Ranvier of myelinated axons, of motor nerve terminals innervating skeletal muscle and of perisynaptic Schwann cells somata has been observed [4–9]. Such swelling has been attributed to the water movement that compensates for the increased intracellular  $\text{Na}^{+}$  concentration induced by CTXs.

Recently, Pacific (P-CTX-1) and Caribbean (C-CTX-1) ciguatoxins, introduced by intraperitoneal exposure, were

\* Corresponding author. Fax: +33 1 69 33 30 17.

E-mail address: [martin-pierre.sauviat@polytechnique.fr](mailto:martin-pierre.sauviat@polytechnique.fr) (M.-P. Sauviat).

detected in the blood of exposed mice [10]. The hemolytic properties of CTXs have been reported on erythrocytes of *Tilapia* red fish [11] and of human [12]. In a preliminary report, Boydrón et al. [13] showed that P-CTX-1 causes frog red blood cells (RBC) to swell. Interestingly, this swelling was not sensitive to tetrodotoxin, a well-known inhibitor of  $\text{Na}^+$  channels, and was neither prevented nor suppressed by blocking the  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$  exchanger with benzamil. In contrast, the swelling was found to be dependent on the presence of extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  in the media and blocked by  $\text{Cd}^{2+}$  and verapamil, which suggests that the activation of L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels was involved in the swelling process. It is worth noting that the regulation of L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels is complex and involves different pathways including those of cAMP and cGMP. The cGMP pathway involves the participation of nitric oxide (NO), produced by NO synthase (NOS), which activates soluble guanylate cyclase (sGC) and thus modulates the intracellular cGMP concentration and then regulates L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels by reducing cAMP production via phosphodiesterases (PDE3) [14]. The presence of constitutive NOS, sGC and PDE3 activities has been demonstrated in erythrocytes of various species [15–18]. In addition, GC inhibition reduced human RBC deformation, and NO is an important determinant in RBC mechanical behavior that plays a regulatory role for RBC deformability [19].

The aim of the present work was to investigate the mechanisms by which CTXs (P-CTX-1 and C-CTX-1) affect the rheological behavior of frog RBCs to better understand their mode of action and the way by which they cause RBC swelling.

## Materials and methods

Experiments were performed at room temperature (20°C) on erythrocytes obtained from the blood evicted from the frog (*Rana esculenta*) heart.

### Solutions and chemicals

The composition of the Ringer solution was (in mM): NaCl, 110.5;  $\text{CaCl}_2$ , 2; KCl, 2.5; HEPES (NaOH) buffer, 10 (pH 7.35). In some experiments,  $\text{Sr}^{2+}$  was added to the Ringer solution. Soluble guanylate cyclase (sGC), activated by the nitric oxide (NO) produced by the NO synthase (NOS), was selectively inhibited by H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ, Aldrich Chimie). According to Olken and Marletta [20], NOS was inhibited by *NG*-methyl-L-arginine (L-NMA; Sigma-Aldrich). Charybdotoxin and apamin (Alomone, Jerusalem, Israel) were used to block large and small conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  channels. The fungal metabolite cytochalasin D (cytD, Sigma-Aldrich) was used to inhibit actin filaments cytoskeleton and *Clostridium sordellii* lethal toxin (LT) to glycosylates [21] small-molecular-mass GTP-binding proteins which are involved in cellular architecture organization. P-CTX-1 and C-CTX-1 were dissolved in water containing ethanol (1%) to give a final stock concentration of 1  $\mu\text{M}$ .

### Experimental procedure

After double pithing the frog, the heart was removed, bathed in a standard Ringer solution (1 mL), and the blood was evicted. Petri dishes containing 1 mL Ringer solution received an aliquot of 1  $\mu\text{L}$  blood, and the mix was gently stirred. Amphibian RBCs (Fig. 1A) are elliptical discs sometimes bulging in the center where the oval nucleus occurs [22]. The cells population is highly homogenous. RBCs were observed at a magnification of 320 $\times$ , using an inverted microscope (Wild-Leitz). The length ( $L$ ) of the large axis and the width ( $w$ ) of the small axis of the RBC ellipses (Fig. 1A) were measured using a graduated eyepiece and stored on a desk computer (AT 80486 DX 33) for further statistical analysis. The deformation index ( $\delta$ ), i.e. the relationships between  $L$  and  $w$  axes of the ellipse, was calculated according to the formula [23]:

$$\delta = (L - w)/(L + w) \quad (1)$$

RBC projected surface ( $S$ ) was calculated according to the formula:

$$S = (L/2)(w/2)\pi \quad (2)$$

Calculations of the surface of the total RBC envelop ( $S_{\text{RBC}}$ ) and of the longitudinal force along the long axis ( $F_L$ ) were conducted by solving the equation of the revolution of an ellipse around its axis:

$$y = 2\pi a^2 b^4 \int_{\infty}^0 [(1/a^2 + t^2) + 2/b^2 + t^2] / [(b^2 + t^2)(a^2 + t^2)] dt \quad (3)$$

where  $a$  and  $b$  are experimental data obtained for  $L$  and  $w$ , respectively, and  $t$  is an integration variable. RBC volume ( $V_{\text{RBC}}$ ) was calculated using the prolate ellipsoid formula:

$$V_{\text{RBC}} = 4/3\pi(Lw^2) \quad (4)$$

### Intracellular $\text{Ca}^{2+}$ changes measurement

Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  changes were determined on single RBC by microspectrofluorometry, using the  $\text{Ca}^{2+}$ -sensitive fluorescent dye fura-2/AM (Molecular Probes, Europe BV, The Netherlands). Cells were incubated for 3 h with a Ringer solution containing fura-2/AM (6  $\mu\text{M}$ ) and were washed free of the dye before fluorescence measurement using a smooth perfusing system exchange. Unstained cells and fluorescence observations were made with an inverted microscope IX 70 equipped with a dry objective LCPLan FL 40  $\times$  0.60 Ph2 (Olympus, Rungis, France) and a camera system (Sony, Japan) and coupled to a Life Science Resources microfluorometric system (Olympus Europe, Rungis, France).  $F$ , the ratio fluorescence intensity (510 nm emission) with excitation at 340 nm and 380 nm, was used as an index of the variation of

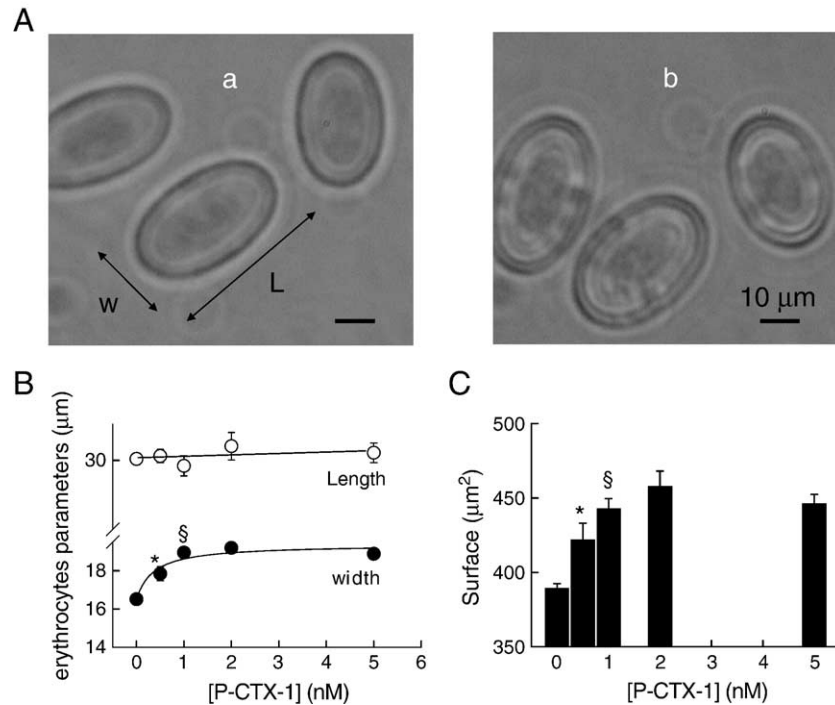


Fig. 1. Frog red blood cells (RBC) swelling induced by P-CTX-1. (A) Image of the elliptic shape of RBC incubated (a) in Ringer solution and (b) during 60 min in Ringer solution containing P-CTX-1 (1 nM).  $L$ : length of the large axis;  $w$ : width of the small axis. (a) and (b): same scale (10  $\mu\text{m}$ ). Objective:  $\times 40$ . (B, C) Dose–response curves of the effects of P-CTX-1 on RBC parameters ( $L$  and  $w$ ) and RBC surface. RBCs were incubated for 60 min in a Ringer solution containing increasing P-CTX-1 concentrations. In panels B and C, the data are mean value  $\pm$  SEM of 6 experiments. \* $P < 0.05$  for P-CTX-1 (0.5 nM) vs. control; § $P < 0.05$  for P-CTX-1 (1 nM) vs. P-CTX-1 (0.5 nM).

the intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration [24]. When  $F_{340}$  increases and  $F_{380}$  decreases, the ratio  $F_{340/380}$  indicates a rise of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ . The fluorescence ratio was used to describe the relative changes of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration without conversion to absolute values of intracellular free  $\text{Ca}^{2+}$ . Ratio values  $F_{340/380}$  were accumulated and transferred through an interface to a host computer which controlled excitation, shutters, monochromator and data acquisition by means of the software Photopro (LSR).

#### Statistical analysis

Under each experimental condition, the dimensions of 12 RBCs were measured at random and stored on a desk computer (Optilex Gx270, Dell) for further analysis. Data were expressed as the mean values  $\pm$  standard error of the mean (SEM) of  $n$  experiments. Comparisons between values were done using paired Student's  $t$  test delivered by the software Sigmaplot (Jandel Scientific GmbH, Erkrath, Germany). A  $P$  value of less than 0.05 was considered significant.

## Results

#### RBC shape distortion induced by CTXs

We first measured RBC geometrical (length and width) parameters under control conditions. We found that the mean values of RBC length and width were  $30.04 \pm 0.16 \mu\text{m}$  and

$16.51 \pm 0.07 \mu\text{m}$ , respectively, and that the averaged RBC projected surface was  $389.5 \pm 3.0 \mu\text{m}^2$  ( $n = 50$ ). These values remained stable when RBCs were bathed in Ringer solution for at least 6 h. Then, we added P-CTX-1 or C-CTX-1 to the Ringer solution and measured RBC parameters. RBC incubation for 1 h in a Ringer solution containing P-CTX-1 (0.5 and 1 nM) produced a significant ( $P < 0.05$ ) increase in the width of RBCs without markedly affecting their length (Fig. 1B). This increase was dose-dependent. The cell width was not further enhanced when higher concentrations of toxin (up to 5 nM) were used (Fig. 1B). The change in RBC width occurred in a time-dependent manner, maximum values being reached within 45 to 60 min, irrespectively of the dose of P-CTX-1 tested. The deformation index  $\delta$  ( $\delta = 0.291 \pm 0.002$ ;  $n = 6$ ), significantly ( $P < 0.05$ ) decreased (12%) after 0.5 nM P-CTX-1 application ( $\delta = 0.256 \pm 0.007$ ;  $n = 6$ ), reached a steady value in the presence of 1 nM ( $\delta = 0.223 \pm 0.004$ ;  $n = 6$ ) and 5 nM P-CTX-1 ( $\delta = 0.229 \pm 0.005$ ;  $n = 6$ ). Consequently to the width increase, the RBC surface increased significantly ( $P < 0.05$ ) with increasing P-CTX-1 concentrations (Fig. 1C). The presence of C-CTX-1 in the Ringer solution also produced a significant increase in RBC dimensions and surface. Within 60 min after addition of C-CTX-1 (1 nM) to the Ringer solution, the cell width increased by 15% ( $P < 0.05$ ) and the surface by 18% ( $P < 0.05$ ), while the cell length was not notably altered (see Table 1A). Therefore, in the following experiments, RBC parameters were measured 60 min after RBC incubation in the presence of toxin, if not otherwise stated.

Table 1

Changes in frog RBC length, width, deformation index ( $\delta$ ) and projected surface induced by the addition of ODQ (27  $\mu\text{M}$ ) and  $\text{Sr}^{2+}$  (1 mM) to the Ringer control solution prior or after C-CTX-1 (1 nM) application

Treatment	Length ( $\mu\text{m}$ )	Width ( $\mu\text{m}$ )	$\delta$	Surface ( $\mu\text{m}^2$ )
<i>(A) C-CTX-1 prior to ODQ</i>				
Control	29.28 $\pm$ 0.49	16.08 $\pm$ 0.36	0.291 $\pm$ 0.007	370.4 $\pm$ 13.2
C-CTX-1	30.21 $\pm$ 0.39	18.53 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>	0.240 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	439.2 $\pm$ 7.9 <sup>a</sup>
C-CTX-1 and ODQ	29.67 $\pm$ 0.63	15.60 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	0.311 $\pm$ 0.007 <sup>b</sup>	363.8 $\pm$ 14.9 <sup>b</sup>
<i>(B) ODQ prior to C-CTX-1</i>				
Control	29.81 $\pm$ 0.48	16.32 $\pm$ 0.19	0.293 $\pm$ 0.002	382.0 $\pm$ 10.5
ODQ	29.64 $\pm$ 0.16	15.63 $\pm$ 0.54	0.310 $\pm$ 0.017	363.8 $\pm$ 11.5
ODQ and C-CTX-1	29.28 $\pm$ 0.49	14.69 $\pm$ 0.49	0.332 $\pm$ 0.015	337.7 $\pm$ 13.5
<i>(C) <math>\text{Sr}^{2+}</math> prior to C-CTX-1</i>				
Control	29.55 $\pm$ 0.63	15.69 $\pm$ 0.24	0.306 $\pm$ 0.013	364.1 $\pm$ 9.0
$\text{Sr}^{2+}$	29.70 $\pm$ 0.45	15.65 $\pm$ 0.18	0.310 $\pm$ 0.009	364.9 $\pm$ 5.9
$\text{Sr}^{2+}$ and C-CTX-1	29.80 $\pm$ 0.66	15.88 $\pm$ 0.37	0.305 $\pm$ 0.015	371.6 $\pm$ 11.9

RBCs were successively incubated for 60 min in each solution. Data are mean values  $\pm$  SEM of 4 experiments.

<sup>a</sup>  $P < 0.05$  for C-CTX-1 vs. control.

<sup>b</sup>  $P < 0.05$  for ODQ vs. C-CTX-1.

#### ODQ-induced soluble guanylate cyclase inhibition

To determine if the cGMP pathway was involved in RBC swelling, we used the sGC inhibitor ODQ. The increase in cell width induced by P-CTX-1 (1 nM) was significantly ( $P < 0.001$ ) reversed within 60 min following the subsequent addition of ODQ (27  $\mu\text{M}$ ) to the solution containing the toxin (Fig. 2A). ODQ significantly ( $P < 0.05$ ) ( $\delta_{\text{ODQ}} = 0.279 \pm 0.007$ ;  $n = 6$ ) reversed the significant ( $P < 0.05$ ) decrease of  $\delta$  induced by the addition of P-CTX-1 ( $\delta_{\text{P-CTX-1}} = 0.208 \pm 0.006$ ;  $n = 6$ ) to the control solution ( $\delta_{\text{control}} = 0.280 \pm 0.005$ ;  $n = 6$ ). The RBC surface, which was previously increased by P-CTX-1 (1 nM) incubation ( $S_{\text{P-CTX-1}} = 441.0 \pm 4.9 \mu\text{m}^2$ ,  $n = 6$ ), was significantly reduced after ODQ treatment ( $S_{\text{P-CTX-1}+\text{ODQ}} =$

$381 \pm 4.1 \mu\text{m}^2$ ;  $n = 6$ ), a value not significantly different from the control ( $S_{\text{control}} = 384.6 \pm 7.7 \mu\text{m}^2$ ,  $n = 6$ ). In the absence of P-CTX-1, the application of ODQ (27  $\mu\text{M}$ ) alone for 60 min did not affect the RBC dimensions (Fig. 2B). Moreover, it prevented cell swelling since subsequent addition of P-CTX-1 (1 nM) to the Ringer solution containing ODQ had no significant effect on RBC width (Fig. 2B) and on  $\delta$  ( $\delta_{\text{control}} = 0.288 \pm 0.007$ ;  $\delta_{\text{ODQ}} = 0.295 \pm 0.008$ ;  $n = 6$ ). Pre-application of ODQ (27  $\mu\text{M}$ ) to control cells did not affect the cell surface ( $S_{\text{control}} = 383.2 \pm 5.2 \mu\text{m}^2$ ,  $n = 6$ ;  $S_{\text{ODQ}} = 377.9 \pm 7.8 \mu\text{m}^2$ ,  $n = 6$ ) but prevented a subsequent P-CTX-1 (1 nM)-induced increase in cell surface ( $S_{\text{ODQ}+\text{P-CTX-1}} = 382.7 \pm 4.8 \mu\text{m}^2$ ,  $n = 6$ ) and decrease of  $\delta$  ( $\delta_{\text{ODQ}+\text{P-CTX-1}} = 0.277 \pm 0.008$ ;  $n = 6$ ). Additional experiments also show that the increase in RBC parameters, induced by C-CTX-1 (1 nM), was reversed (Table 1A) or prevented (Table 1B) by the addition of ODQ (27  $\mu\text{M}$ ; applied for 60 min) to the Ringer solution.

#### NOS inhibition by L-NMA

ODQ experiments revealed that a blockade of sGC prevented the RBC swelling induced by CTXs. Then, the effects of an inhibition of NO production were studied by poisoning NOS with L-NMA, an L-arginine analogue. The width of RBC, incubated for 3 h in a Ringer solution containing L-NMA (10  $\mu\text{M}$ ), was slightly but significantly ( $P < 0.05$ ) increased (Table 2A), while  $\delta$  was not modified. Subsequent addition of P-CTX-1 (1 nM) to the solution containing L-NMA did not change the values of RBC parameters (Table 2A). Conversely, parameters of RBC incubated in a Ringer solution containing P-CTX-1 (1 nM), prior to L-NMA (10  $\mu\text{M}$ ) treatment, were significantly ( $P < 0.05$ ) decreased (Table 2B). Subsequent addition of L-NMA (10  $\mu\text{M}$ ) to the solution containing P-CTX-1 (1 nM) significantly shortened the width, increased  $\delta$  and led to a reduction of the RBC projected surface (Table 2B).

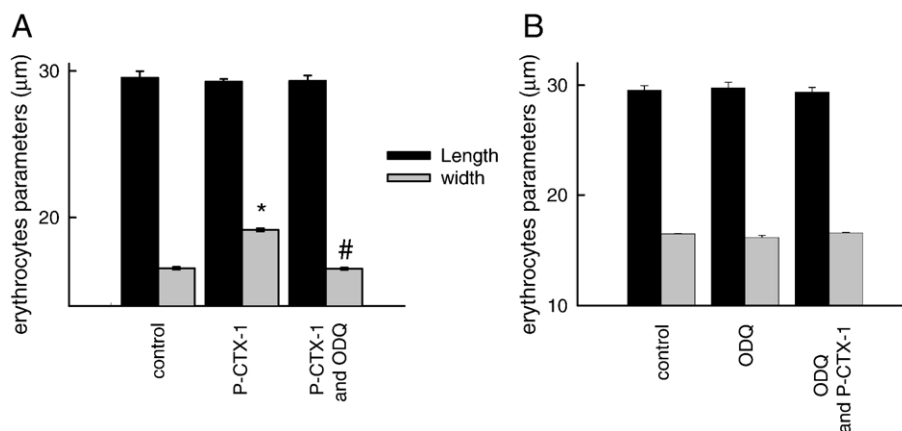


Fig. 2. Reversion (A) and prevention (B) of P-CTX-1 induced increase in frog erythrocytes parameters by ODQ. RBCs were incubated successively for a period of 60 min in: (A) Ringer solution, Ringer solution containing P-CTX-1 (1 nM) and Ringer solution containing P-CTX-1 and ODQ (27  $\mu\text{M}$ ); (B) Ringer solution, Ringer solution containing ODQ (27  $\mu\text{M}$ ) and Ringer solution containing ODQ and P-CTX-1 (1 nM). In panels A and B, data are mean values  $\pm$  SEM of 6 experiments. \* $P < 0.001$  for P-CTX-1 vs. control; # $P < 0.001$  for P-CTX-1 + ODQ vs. P-CTX-1.



Table 2

Frog RBC length, width, deformation index ( $\delta$ ) and projected surface variations induced by the addition of NG-methyl-L-arginine (L-NMA, 10  $\mu$ M), charybdotoxin (1  $\mu$ M), apamin (1  $\mu$ M) and cytochalasin D (cytD, 10  $\mu$ M) to the Ringer control solution prior or after P-CTX-1 (1 nM) application

Treatment	Length ( $\mu$ m)	Width ( $\mu$ m)	$\delta$	Surface ( $\mu$ m <sup>2</sup> )
<i>(A) L-NMA (3 h) prior to P-CTX-1 (1 h)</i>				
Control	30.10 $\pm$ 0.14	16.65 $\pm$ 0.06	0.287 $\pm$ 0.003	393.6 $\pm$ 1.9
L-NMA	30.63 $\pm$ 0.10	17.12 $\pm$ 0.10 <sup>#</sup>	0.283 $\pm$ 0.003	412.0 $\pm$ 3.0 <sup>#</sup>
L-NMA and P-CTX-1	30.60 $\pm$ 0.10	17.23 $\pm$ 0.10	0.280 $\pm$ 0.003	414.3 $\pm$ 2.7
<i>(B) P-CTX-1 (1 h) prior to L-NMA (3 h)</i>				
Control	29.81 $\pm$ 0.09	16.53 $\pm$ 0.03	0.287 $\pm$ 0.001	387.0 $\pm$ 1.5
P-CTX-1	30.31 $\pm$ 0.10*	18.65 $\pm$ 0.10*	0.238 $\pm$ 0.003*	443.7 $\pm$ 3.1*
P-CTX-1 and L-NMA	29.66 $\pm$ 0.14	16.89.23 $\pm$ 0.8 <sup>#</sup>	0.274 $\pm$ 0.003 <sup>#</sup>	393.4 $\pm$ 2.5 <sup>#</sup>
<i>(C) P-CTX-1 (1 h) prior to charybdotoxin and apamin (1 h)</i>				
Control	29.21 $\pm$ 0.33	16.12 $\pm$ 0.12	0.283 $\pm$ 0.005	369.8 $\pm$ 6.8
P-CTX-1	27.87 $\pm$ 0.07	18.80 $\pm$ 0.01*	0.195 $\pm$ 0.007*	412.8 $\pm$ 2.6*
P-CTX-1 and charybdotoxin	28.10 $\pm$ 0.46	18.93 $\pm$ 0.36	0.195 $\pm$ 0.007	417.7 $\pm$ 9.9
P-CTX-1, charybdotoxin and apamin	28.50 $\pm$ 0.97	16.30 $\pm$ 0.01 <sup>#</sup>	0.273 $\pm$ 0.006 <sup>#</sup>	369.4 $\pm$ 7.4 <sup>#</sup>
<i>(D) CytD (3 h) prior to P-CTX-1 (1 h)</i>				
Control	29.92 $\pm$ 0.14	16.72 $\pm$ 0.07	0.283 $\pm$ 0.006	392.9 $\pm$ 2.3
CytD	29.72 $\pm$ 0.13	18.77 $\pm$ 0.10*	0.226 $\pm$ 0.004*	437.6 $\pm$ 2.8*
CytD and P-CTX-1	29.98 $\pm$ 0.12	19.64 $\pm$ 0.09 <sup>#</sup>	0.208 $\pm$ 0.003 <sup>#</sup>	462.3 $\pm$ 2.7 <sup>#</sup>
<i>(E) CytD and L-NMA (3 h) prior to P-CTX-1 (1 h)</i>				
Control	29.67 $\pm$ 0.07	16.07 $\pm$ 0.07	0.297 $\pm$ 0.002	374.5 $\pm$ 2.0
CytD and L-NMA	28.69 $\pm$ 0.15*	18.86 $\pm$ 0.09*	0.206 $\pm$ 0.004*	424.8 $\pm$ 2.5*
CytD, L-NMA and P-CTX-1	28.18 $\pm$ 0.17	18.62 $\pm$ 0.08	0.203 $\pm$ 0.004	412.1 $\pm$ 3.2

Data are mean values  $\pm$  SEM of n experiments. (A): \* $P$  < 0.05 for L-NMA vs. control ( $n$  = 6); (B) \* $P$  < 0.05 for P-CTX-1 vs. control, <sup>#</sup> $P$  < 0.05 for P-CTX-1 and L-NMA vs. control ( $n$  = 6); (C) \* $P$  < 0.05 for P-CTX-1 vs. control; <sup>#</sup> $P$  < 0.05 for P-CTX-1, charybdotoxin and apamin vs. P-CTX-1 and charybdotoxin ( $n$  = 4); (D) \* $P$  < 0.001 for cytD vs. control; <sup>#</sup> $P$  < 0.001 for cytD and P-CTX-1 vs. cytD ( $n$  = 6); (E) \* $P$  < 0.001 for cytD and L-NMA vs. control ( $n$  = 6).

### Increase in intracellular $Ca^{2+}$ content ( $[Ca^{2+}]_i$ )

Cell swelling is often associated to an increase in  $[Ca^{2+}]_i$ . Therefore, we analyzed the change in the basal level of the fluorescence ratio ( $F_{340}/F_{380}$ ) of fura-2/AM loaded RBC. The basal level of the ratio  $F_{340}/F_{380}$  increased after the addition of P-CTX-1 (1 nM) to the standard medium (Fig. 3A). In 6 experiments, after a delay of  $40 \pm 8$  s, the ratio  $F_{340}/F_{380}$  of RBC, perfused using a Ringer solution containing P-CTX-1

(1 nM), was increased by  $0.036 \pm 0.002$  after 4 min. Subsequent addition of  $Cd^{2+}$  (2 mM) to the perfusing solution containing P-CTX-1 produced a decrease of the ratio  $F_{340}/F_{380}$  towards its initial value (Fig. 3A). Similar results were obtained when C-CTX-1 (1 nM) was added to the Ringer solution where the ratio  $F_{340}/F_{380}$  was increased by  $0.036 \pm 0.013$  ( $n$  = 3). In RBC incubated (for 3 h) in a Ringer solution containing L-NMA (10  $\mu$ M) prior P-CTX-1 (1 nM) addition, the ratio  $F_{340}/F_{380}$  did not change after the

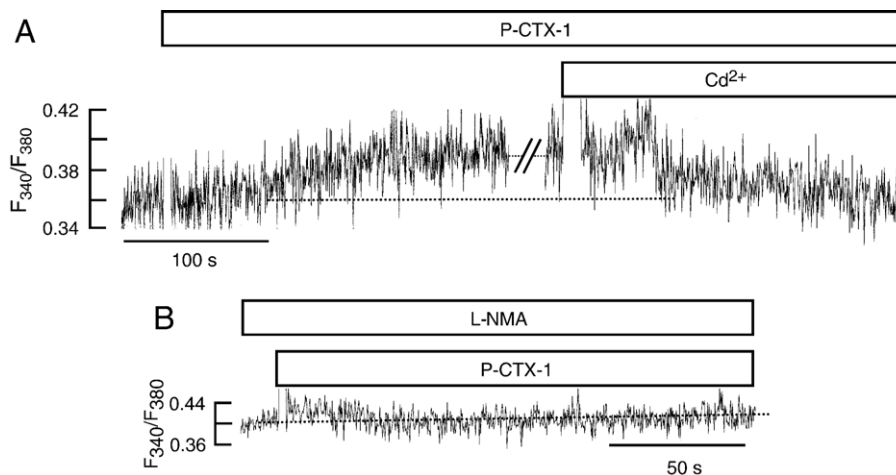


Fig. 3. Change in fura-2/AM fluorescence ratio  $F_{340}/F_{380}$  in frog RBC. (A) P-CTX-1 (1 nM) superfusion of RBC incubated in Ringer solution and subsequent addition of  $Cd^{2+}$  (2 mM) to the control solution containing P-CTX-1. (B) P-CTX-1 (1 nM) superfusion of RBC incubated in a Ringer solution containing L-NMA (10  $\mu$ M).

subsequent addition of P-CTX-1 to the solution containing L-NMA (Fig. 3B).

#### Blockade of $Ca^{2+}$ -activated $K^+$ channels

The data revealed that an increase in  $[Ca^{2+}]_i$  content occurred during RBC swelling induced by CTXs. As a possible consequence, the elevated  $[Ca^{2+}]_i$  may activate  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  ( $SK_{Ca}$ ) channels. Therefore, the effect of a possible activation of  $SK_{Ca}$  channels isoforms was studied by inhibiting these channels using charybdotoxin or apamin. The addition of charybdotoxin (1  $\mu$ M for 60 min) to the solution containing P-CTX-1 (1 nM) did not affect the effects of P-CTX-1 on RBC parameters, whereas a subsequent addition of apamin (1  $\mu$ M for 60 min) to the solution containing P-CTX-1 and charybdotoxin markedly suppressed the ciguatoxin-induced lengthening of cell parameters and surface (Table 2C). In additional experiments, the addition of  $Sr^{2+}$  (1 mM) to the Ringer solution did not affect RBC dimensions but prevented the changes produced by the subsequent C-CTX-1 (1 nM) addition to the Ringer solution containing  $Sr^{2+}$  (Table 1C).

#### Actin skeleton inhibition

We showed that CTXs cause RBC shape deformation by increasing their width but not their length and enhancing  $[Ca^{2+}]_i$ . A  $[Ca^{2+}]_i$  increase may affect the cellular actin skeleton. In order to precise the nature of RBC shape deformation induced by CTXs, the effects of CTXs on RBC deformability were compared to those of the fungal metabolite cytochalasin D (cytD) which is a well-known potent inhibitor of actin filament and contractile microfilaments. RBC

incubated (for 3 to 5 h in the dark) in a Ringer solution containing cytD (10  $\mu$ M) underwent changes in their shape with an increase in their width (Fig. 4). RBC length was not modified during cytD treatment, while their width was significantly ( $P < 0.001$ ) increased by 12% and, consequently,  $\delta$  was significantly ( $P < 0.001$ ) decreased and RBC surface was significantly ( $P < 0.001$ ) increased by 11% (Table 2D). Subsequent addition of P-CTX-1 (1 nM) to a Ringer solution containing cytD (for 3 h) generated an additional and significant ( $P < 0.001$ ) increase in RBC width (4.6%) and surface (Table 2D) and decreased  $\delta$ . However, the RBC width and surface were significantly ( $P < 0.001$ ) increased and  $\delta$  decreased, when cells were previously incubated (for 3 h) with a Ringer solution containing both cytD (10  $\mu$ M) and L-NMA (10  $\mu$ M) (Table 2E). Subsequent addition of P-CTX-1 (1 nM) to the solution containing both cytD and L-NMA did not affect these parameters (Table 2E). Finally, the shape and surface of RBCs did not change when the cells were incubated for 6 h in a Ringer solution containing *C. sordellii* LT (0.4 ng/mL), known to glycosylate small G-proteins.

#### RBC deformability

The ellipsoid shape of frog RBC indicates that they are continuously constrained. A confirmation of this assumption was given by poisoning RBC cells with cytD (see above). During these experiments, RBCs rounded after 5 to 6 h of treatment, due to the destruction of actin cytoskeleton (Fig. 4A). Therefore, this revealed that the actin cytoskeleton constrains frog RBC membrane to adopt an ellipsoid shape, and one can guess that the protein distribution under the membrane is highly anisotropic. CytD or P-CTX-1 poisoning

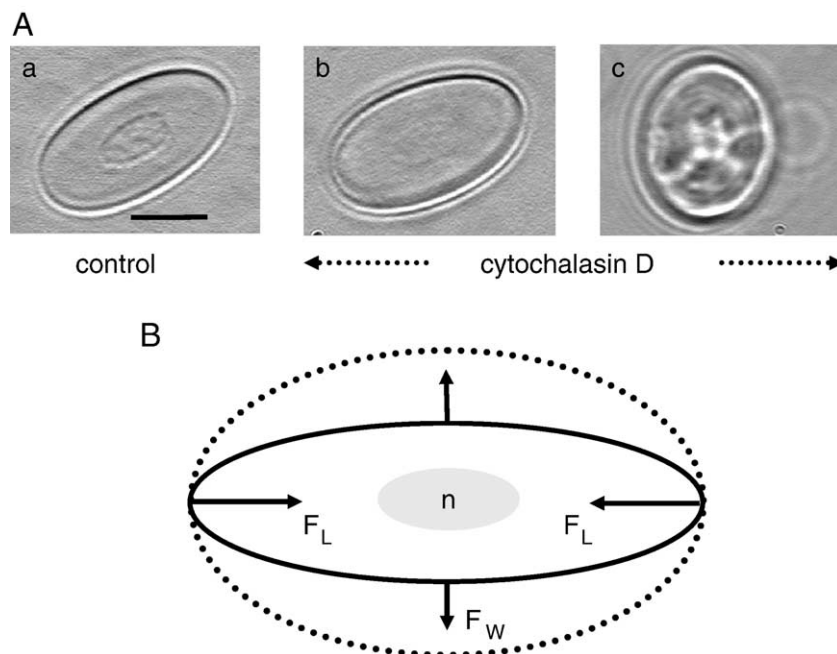


Fig. 4. Effects of cytochalasin D (cytD, 10  $\mu$ M) on frog red blood cells (RBC). (A) Image of RBC incubated in a Ringer solution before (a) and after 180 min (b) and 300 min (c) in a Ringer solution containing cytD. Objective:  $\times 40$ . (B) Schematic representation of RBC before (0 min) and 180 min after cytD treatment.  $F_L$ : force along the longitudinal axis;  $F_W$ : force along the width axis;  $n$ : nucleus.

Table 3

Frog RBC parameters, surface and volume calculations (A) in the absence and in the presence of P-CTX-1 (1 nM) in the control Ringer solution; (B) before and after cytochalasin D (cytD, 10  $\mu$ M) treatment and subsequent application of P-CTX-1 (1 nM)

RBC parameters	$L$ ( $\mu$ m)	$w$ ( $\mu$ m)	$\delta$	$S_{\text{RBC}}$ ( $\mu\text{m}^2$ )	$V_{\text{RBC}}$ (pL)	$\Delta w$ (%)	$\Delta S_{\text{RBC}}$ ( $\mu\text{m}^2$ )	$V_{\text{water}}$ (pL)	$\Delta F_L$ (%)
<i>(A) P-CTX-1 treatment (n = 12)</i>									
Control	29.7	16.6	0.283	541	34.5				
P-CTX-1	29.8	18.9	0.224	632	44.9				
P-CTX-1 to control						13.8	91	10.4	35
<i>(B) cytD prior to P-CTX-1 (n = 6)</i>									
Control	29.9	16.7	0.283	546	35.1				
CytD	29.7	18.7	0.227	622	43.8				
CytD and P-CTX-1	29.9	19.6	0.208	662	48.4				
CytD to control						12.0	76	8.7	31
P-CTX-1 to CytD						4.7	40	4.6	19

Calculations were conducted using experimental data obtained for RBC length ( $L$ ) and width ( $w$ ) and deformation index ( $\delta$ ) in Fig. 1B and Table 2D respectively to solve Eq. (2).  $S_{\text{RBC}}$ : total surface envelop;  $F_L$ : longitudinal force along L axis;  $\Delta w$ : width variation;  $\Delta S_{\text{RBC}}$ : total envelop surface variation;  $V_{\text{RBC}}$ : RBC volume;  $V_{\text{water}}$ : volume of water entering;  $\Delta F_L$ : longitudinal force variation.

mainly affected the small axis of the ellipsoid, leading to an increase in the projected surface area (see Table 2). These data were used to calculate the global surface envelope of RBC ( $S_{\text{RBC}}$ ) by solving Eq. (2). The results summarized in Table 3 show that  $\delta$  decreased and  $S_{\text{RBC}}$  increased after P-CTX-1 (1 nM) or cytD (10  $\mu$ M) treatment. It also shows that subsequent addition of P-CTX-1 to the solution containing cytD caused an additional  $\delta$  decrease and  $S_{\text{RBC}}$  increase. Due to the destruction of the actin cytoskeleton, RBCs were under the constraint of longitudinal force ( $F_L$ ) of the ellipsoid length. Our calculations reveal that  $F_L$  strongly decreased by the same order of magnitude in the presence of P-CTX-1 (Table 3A) and cytD (Table 3B). Table 3 also shows that, under P-CTX-1 or cytD treatment, RBC volume ( $V_{\text{RBC}}$ ) was increased.  $V_{\text{RBC}}$  variations reflect the volume of water ( $V_{\text{water}}$ ) which entered into the cell in response to the geometrical changes induced by the substances. Table 3 shows that a good correlation exists between  $V_{\text{water}}$  which enters after application of P-CTX-1 (Table 3A) and that which enters after cytD treatment (Table 3B). Table 3B also shows that the subsequent treatment of RBC, poisoned with cytD, by P-CTX-1 (1 nM) led to an extra increase of RBC parameters.

## Discussion

The results of the present study show that swelling of frog erythrocytes caused by both P-CTX-1 and C-CTX-1 is attributable to NOS activation leading to  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  increase via the cGMP pathway. This swelling due to an increase of RBC width might be attributed to both an alteration of the actin cytoskeleton caused by  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  increase and a water influx resulting from a  $\text{K}^+$  efflux via apamin-sensitive  $\text{SK}_{\text{Ca}}$  channels.

Our results show that L-NMA prevents or suppresses the RBC swelling induced by P-CTX-1. L-NMA is known to replace the natural substrate L-arginine of NOS and then to reversibly inhibit NOS [18]. Therefore, the data that L-NMA affects P-CTX-1 effect on RBC reveal that NOS is involved in erythrocytes swelling process induced by CTXs. It is worth noting that NO plays a role in maintaining RBC deformability

and inhibition of NOS resulted in significant impairment of RBC deformability which could be restored by external NO donors [14]. Our data also reveal that frog RBC swelling induced by CTXs is suppressed and prevented by ODQ, a specific inhibitor of sGC. It is worth noting that sGC inhibitors (such as ODQ and methylene blue) have been reported to impair human RBC deformation [19]. ODQ is known to inhibit the activity of sGC by binding to its heme, which counteracts the binding of NO and leads to a decrease of intracellular cGMP level [25]. As a consequence, such a decrease will unblock PDE3. In several systems, including avian embryo RBCs, the activity of cGMP-sensitive PDE3 has been shown to modulate intracellular cAMP concentration [14,26]. Hence, ODQ has been shown to inhibit cAMP formation in avian erythrocytes [16]. Taken together, these observations strongly suggest that an increase in NO production occurs during CTXs-induced RBC swelling. This will enhance the intracellular cGMP level and thus increase cAMP production which, in turn, activates L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel (see below). According to these results, we demonstrate that the participation of inducible NOS (iNOS) as the NO donor to activate sGC is involved in the swelling process of RBC induced by CTXs.

According to Boydrion et al. [13], frog RBC swelling induced by P-CTX-1 requires the presence of  $\text{Ca}^{2+}$  in the medium to develop and is blocked by L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel inhibitors ( $\text{Cd}^{2+}$  and verapamil). These findings strongly suggest that an activation of these channels, as well as a consequent increase in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ), occurs during CTXs-induced RBC swelling. Indeed, during cell swelling,  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  has been reported to increase in a variety of cells [26]. Our data show that RBC basal  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  increases within few minutes in the presence of both P-CTX-1 and C-CTX-1 in the control solution. A  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  increase, independent of the presence of extracellular  $\text{Ca}^{2+}$ , occurs in the presence of P-CTX-1 (2.5 nM to 25 nM) in cultured, differentiated NG108-15 neuroblastoma  $\times$  rat glioma hybrid cells [27,28]. Our results show that  $\text{Cd}^{2+}$ , a blocker of L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels, reverses RBC  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  increase which bring evidences that the  $\text{Ca}^{2+}$  influx involved in RBC swelling induced by CTXs occurs via L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels. In

addition, our data also show that  $[Ca^{2+}]_i$  does not increase when RBCs are pre-treated with L-MNA prior to P-CTX-1 application, indicating that NOS activity is involved in  $[Ca^{2+}]_i$  increase.

Increased  $[Ca^{2+}]_i$  is also known to activate  $Ca^{2+}$ -sensitive  $K^+$  ( $SK_{Ca}$ ) channels [26]. Different  $SK_{Ca}$  channel isoforms are known to differ in their sensitivity to apamin [29], the SK2 isoform being highly sensitive to the bee venom toxin [30]. Our data show that C-CTX-1-induced RBC swelling is prevented by the addition of  $Sr^{2+}$ , a cation which is known to penetrate into the cells via L-type  $Ca^{2+}$  channels and to block  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  channels. Moreover, P-CTX-1-induced RBC swelling is suppressed by apamin but not by charybdotoxin. Taken together, these observations strongly suggest that activation of low conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  channels of the SK2 type occurs during the RBC swelling induced by CTXs.

Our data also show that disruption of actin cytoskeleton by application of the fungal metabolite cytD lengthens RBC width which becomes round and causes an increase of their surface and volume. These observations suggested that the actin cytoskeleton involved in the ellipsoid shape carriage in frog RBC is oriented and presents a polarization along the length axis of the cells and important constraint forces along the width axis. A possible consequence of these changes of RBC shape and constraint is that membrane proteins are less strongly attached inside the cells, which will affect their functioning. CytD treatment promotes activation of large-conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  channels in rabbit coronary artery and smooth muscle [31]. Our data show that Pacific and Caribbean CTXs mimic cytD effect on RBC. CTXs increase  $[Ca^{2+}]_i$  but activate apamin-sensitive SK2 isoform. It has been shown in epithelial cells that a  $[Ca^{2+}]_i$  increase may lead to depolymerization of actin filaments by binding to gelsolin [32].  $[Ca^{2+}]_i$  increase induced by CTXs application may be involved in RBC deformation and in turn will lead to alteration of  $Na^+$  channels since actin filament fragments are thought to modulate  $Na^+$  channel function [33]. A reorganization of membrane-attached actin filaments has been recently reported to regulate, via G proteins,  $Na^+$  channels in human myeloid leukemia K562 cells [34]. It has been reported that drug-induced actin cytoskeleton disassembly causes a decrease of single current and conductance of stretch activated channels in human myeloid leukemia K562 cells, implying that cortical microfilaments may be a key determinant in modulating channel functions [35]. Our data also reveal that RBCs parameters are not sensitive to the glycosylation of GTP-binding protein by *C. sordellii* LT, suggesting that small G-proteins family is not involved in the degradation of frog RBC cytoskeleton. CytD experiments allow a dissection of P-CTX-1 effects on RBC. We find that, if P-CTX-1 mimics the effect of cytD, the subsequent addition of P-CTX-1 to RBC incubated in a solution containing cytD causes additional and significant changes which do not develop when RBCs have been previously incubated in a solution containing both cytD and L-NMA (see Table 2). These results reveal that the activation of the NO induced by CTXs is involved in this additional RBC swelling.

## Conclusion

In conclusion, the results of this study show that the geometry of frog RBC is a good model to study erythrocytes deformability. They show for the first time that RBC swelling mechanism, induced by CTXs, involves both a disruption of the actin cytoskeleton and the participation of the cGMP pathway by increasing NO production via activation of NOS. This leads to an activation of resting L-type  $Ca^{2+}$  channels and a  $[Ca^{2+}]_i$  increase which activates  $Ca^{2+}$ -activated K channels (SK2 isoforms) and accelerates the depolymerization of the actin cytoskeleton.

## Acknowledgments

The authors wish to thank Usula Liebl and Michel Negerie (Laboratoire d'Optique et Biosciences, Ecole Polytechnique, Palaiseau, France) for helpful discussions. Part of this work was supported by the Secrétariat d'Etat à l'Outre-Mer and the Direction de l'Enseignement de la Province Sud de Nouvelle-Calédonie (RB-LG and DL).

## References

- [1] M. Marquais, M.-P. Sauviat, Effet des ciguatoxines sur le système cardiovasculaire, *J. Soc. Biol.* 193 (1999) 495–504.
- [2] R.J. Lewis, J. Molgó, D.J. Adams, Ciguatera toxins: pharmacology of toxins involved in ciguatera and related fish poisoning, in: L.M. Botana (Ed.), *Seafood and Freshwater Toxins Pharmacology, Physiology and Detection*, M. Dekker Inc., New-York, 2000, pp. 419–447.
- [3] R. Boydrion-Le Garrec, E. Benoit, M.-P. Sauviat, R.J. Lewis, J. Molgó, D. Laurent, Ability of some plant extracts, traditionally used to treat ciguatera fish poisoning, to prevent the in vitro neurotoxicity produced by sodium channel activators, *Toxicol.* 46 (2005) 625–634.
- [4] C. Mattei, M.-Y. Dechraoui, J. Molgó, F.A. Meunier, A.-M. Legrand, E. Benoit, Neurotoxins targeting receptor site 5 of voltage-dependent sodium channels increase the nodal volume of myelinated axons, *J. Neurosci. Res.* 55 (1999) 666–673.
- [5] J. Molgó, P. Juzans, A.-M. Legrand, Confocal laser scanning microscopy: a new tool for studying the effects of ciguatoxin (CTX-1b) and mannitol at motor nerve terminals of the neuromuscular junction in situ, *Mem. Queensl. Mus.* 34 (1994) 577–585.
- [6] E. Benoit, P. Juzans, A.-M. Legrand, J. Molgó, Nodal swelling produced by ciguatoxin-induced selective activation of sodium channels in myelinated nerve fibers, *Neuroscience* 71 (1996) 1121–1131.
- [7] C. Mattei, E. Benoit, P. Juzans, A.-M. Legrand, J. Molgó, Gambiertoxin (CTX-4B), purified from wild *Gambierdiscus toxicus* dinoflagellates, induces  $Na^+$ -dependent swelling of single frog myelinated axons and motor nerve terminals in situ, *Neurosci. Lett.* 234 (1997) 75–78.
- [8] C. Mattei, J. Molgó, M. Marquais, J.-P. Vernoux, E. Benoit, Hyperosmolar D-mannitol reverses the increased membrane excitability and the nodal swelling caused by Caribbean ciguatoxin-1 in single frog myelinated axons, *Brain Res.* 847 (1999) 50–58.
- [9] E. Benoit, D. Laurent, C. Mattei, A.-M. Legrand, J. Molgó, Reversal of Pacific-ciguatoxin-1B effects on myelinated axons by agents used in ciguatera treatment, *Cybiu* 24 (2000) 33–40.
- [10] M.Y. Bottein Dechraoui, Z. Wang, J. Turquet, M. Chinain, T. Darius, P. Cruchet, F.F. Radwan, R.W. Dickey, J.S. Ramsdell, Biomonitoring of ciguatoxin exposure in mice using blood collection card, *Toxicol.* 46 (2005) 243–251.
- [11] R.Y. Shimojo, W.T. Iwaoka, A rapid hemolysis assay for the detection of sodium channel-specific marine toxins, *Toxicology* 154 (2000) 1–7.

- [12] R. Boydrón, M.-P. Sauviat, E. Benoit, J. Molgó, D. Lauren, Evaluation du potentiel thérapeutique des remèdes traditionnellement utilisés contre l'intoxication ciguatérique en Nouvelle-Calédonie par hémolyse des érythrocytes humains, in: F. Goudey-Perrière, C. Bon, S. Puisieux-Dao, M.-P. Sauviat (Eds.), *Toxines et Recherches Biomédicales, Rencontres en Toxinologie*, Editions Scientifiques et Médicales Elsevier, Paris, 2002, pp. 101–104.
- [13] R. Boydrón, D. Laurent, M.-P. Sauviat, Un test biologique destiné à identifier les principes actifs des plantes utilisées comme remèdes traditionnels contre l'intoxication ciguatérique en Nouvelle-Calédonie, in: C. Bon, F. Goudey-Perrière, B. Poulain, S. Puisieux-Dao (Eds.), *Rencontres en Toxinologie Explorer, Exploiter les Toxines et Maîtriser les Organismes Producteurs*, Editions Scientifiques Et Médicales Elsevier, Paris, 2001, pp. 63–66.
- [14] J.A. Beavo, M. Conti, R.J. Heaslip, Multiple cyclic nucleotide phosphodiesterases, *Mol. Pharmacol.* 46 (1994) 399–405.
- [15] G. Minetti, P.S. Low, Erythrocyte signal transduction pathways and their possible functions, *Curr. Opin. Hematol.* 4 (1997) 116–121.
- [16] R. Baumann, C. Blass, R. Götz, S. Dragon, Ontogeny of catecholamine and adenosine receptor-mediated cAMP signaling of embryonic red blood cells: role of cGMP-inhibited phosphodiesterase 3 and haemoglobin, *Blood* 94 (1999) 4314–4320.
- [17] N.N. Kahn, K. Acharya, S. Bhattacharya, R. Acharya, S. Mazumder, W.A. Bauman, A.K. Sinha, Nitric oxide: the “second messenger” of insulin, *IUBMB, Life* 49 (2000) 441–450.
- [18] N. Conran, C. Oresco-Santos, H.C. Acosta, A. Fattori, S.T. Saad, F.F. Costa, Increased soluble guanylate cyclase activity in the red blood cells of sickle cell patients, *Br. J. Haematol.* 24 (2004) 547–554.
- [19] M. Bor-Kucukatay, R.B. Wenby, H.J. Meiselman, O.K. Baskurt, Effects of nitric oxide on red blood cell deformability, *Am. J. Physiol.: Heart Circ. Physiol.* 284 (2003) H1577–H1584.
- [20] C. Olken, M.A. Marletta, NG-methyl-L-arginine functions as an alternate substrate and mechanism-based inhibitor of nitric oxide synthase, *Biochemistry* 32 (1993) 9677–9685.
- [21] M.R. Popoff, E. Chaves-Olarte, E. Lemichez, C. von Eichel-Streiber, M. Thelestam, P. Chardin, D. Cussac, B. Antonny, P. Chavrier, G. Flatau, M. Giry, J. de Gunzburg, P. Boquet, Ras, Rap, and Rac small GTP-binding proteins are targets for *Clostridium sordellii* lethal toxin glucosylation, *J. Biol. Chem.* 271 (1996) 10217–10224.
- [22] G.K. Noble, *The Biology of The Amphibian*, Dover Publication Inc., New-York, 1954, pp. 1–578.
- [23] G. Bazzoni, M. Rasia, Effect of tetracaine chlorhydrate on the mechanical properties of the erythrocyte membrane, *Blood Cells Mol. Diseases* 27 (2001) 391–398.
- [24] G. Gryniewicz, M. Poenie, R.Y. Tsien, A new generation of  $Ca^{2+}$  indicators with greatly improved fluorescence properties, *J. Biol. Chem.* 250 (1985) 3440–3450.
- [25] E. Fedele, Y. Jin, G. Varnier, M. Raiteri, In vivo microdialysis study of a specific inhibitor of soluble guanylyl cyclase on the glutamate receptor/nitric oxide/cyclic GMP pathway, *Br. J. Pharmacol.* 119 (1996) 590–594.
- [26] K. Weber, M. Osborn, The cytoskeleton, *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 60 (1982) 31–46.
- [27] J. Molgó, T. Shimahara, Y.M. Gaudry-Talarmain, J.X. Comella, A.-M. Legrand, Ciguatoxin-induced changes in acetylcholine release and in cytosolic calcium levels, *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 85 (1992) 486–488.
- [28] J. Molgó, T. Shimahara, A.-M. Legrand, Ciguatoxin, extracted from poisonous morays eels, causes sodium-dependent calcium mobilization in NG108-15 neuroblastoma × glioma hybrid cells, *Neurosci. Lett.* 158 (1993) 147–150.
- [29] C. Vergara, R. Latorre, N.V. Marrion, J.P. Adelman, Calcium-activated potassium channels, *Curr. Opin. Neurobiol.* 8 (1998) 321–329.
- [30] H. Wehner, H. Olsen, E. Tinel, R.K. Kinne-Saffran, Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport, and signal transduction, *Rev. Physiol., Biochem. Pharmacol.* 48 (2003) 1–80.
- [31] L. Piao, W.K. Ho, Y.E. Earm, Actin filaments regulate the stretch sensitivity of large-conductance,  $Ca^{2+}$ -activated  $K^{+}$  channels in coronary artery smooth muscle cells, *Pflügers Arch.* 446 (2003) 523–528.
- [32] F. Lang, G.L. Busch, M. Ritter, H. Volkl, S. Waldegger, E. Gulbins, D. Haussinger, Functional significance of cell volume regulatory mechanisms, *Physiol. Rev.* 78 (1998) 247–306.
- [33] B.K. Berdiev, A.G. Prat, H.F. Cantiello, D.A. Ausiello, C.M. Fuller, B. Jovov, D.J. Benos, I.I. Ismailov, Regulation of epithelial sodium channels by short actin filaments, *J. Biol. Chem.* 271 (1996) 17704–17710.
- [34] E.V. Shumilina, S.Y. Khaitlina, E.A. Morachevskaya, Y.A. Negulyaev, Non-hydrolyzable analog of GTP induces activity of  $Na^{+}$  channels via disassembly of cortical actin cytoskeleton, *FEBS. Lett.* 547 (2003) 27–31.
- [35] A. Staruschenko, Y.A. Negulyaev, E.A. Morachevskaya, Actin cytoskeleton disassembly affects conductive properties of stretch-activated cation channels in leukaemia cells, *Biochim. Biophys. Acta* 1669 (2005) 53–60.

# Ionic contrast terahertz near-field imaging of axonal water fluxes

Jean-Baptiste Masson, Martin-Pierre Sauviat, Jean-Louis Martin, and Guilhem Gallot\*

Laboratoire d'Optique et Biosciences, Ecole Polytechnique, Centre National de la Recherche Scientifique Unité Mixte de Recherche 7645, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U696, 91128 Palaiseau, France

Edited by Erich P. Ippen, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA, and approved February 3, 2006 (received for review December 19, 2005)

**We demonstrate the direct and noninvasive imaging of functional neurons by ionic contrast terahertz near-field microscopy. This technique provides quantitative measurements of ionic concentrations in both the intracellular and extracellular compartments and opens the way to direct noninvasive imaging of neurons during electrical, toxin, or thermal stresses. Furthermore, neuronal activity results from both a precise control of transient variations in ionic conductances and a much less studied water exchange between the extracellular matrix and the intraaxonal compartment. The developed ionic contrast terahertz microscopy technique associated with a full three-dimensional simulation of the axon-aperture near-field system allows a precise measurement of the axon geometry and therefore the direct visualization of neuron swelling induced by temperature change or neurotoxin poisoning. Water influx as small as 20 fl per  $\mu\text{m}$  of axonal length can be measured. This technique should then provide grounds for the development of advanced functional neuroimaging methods based on diffusion anisotropy of water molecules.**

near-field microscopy | neuron

Pioneered studies in the field of terahertz ( $1 \text{ THz} = 10^{12} \text{ Hz}$ ) technology followed by more recent advances in laser technology have paved the way for a wide range of applications (1) including terahertz imaging for semiconductor characterization, chemical analysis, and biological and medical imaging (2, 3). Among the involved advantages and by contrast to x-ray imaging, the sample does not suffer from terahertz imaging thanks to the low associated photon energy. Terahertz imaging in biology has been used for tissue investigations with diagnosis perspectives in dermatology and odontology (4–6). Furthermore, recent developments in terahertz guiding through waveguides and metal wires (7, 8) offer the perspective of probing biological samples *in situ*. In this work, we show that absorption spectroscopy in the terahertz range is very sensitive to biological ion concentrations. Hence, terahertz transmission spectroscopy offers an efficient way to observe neurons by the variation of intra- and extracellular ionic concentrations, mainly potassium ( $\text{K}^+$ ) and sodium ( $\text{Na}^+$ ). This technique offers a promising alternative to conventional techniques, such as intracellular microelectrodes (9), patch clamp recording (10), and fluorescence and confocal microscopy (11). Furthermore, by probing with a near-field geometry that allows a spatial resolution beyond the diffraction limit ( $\approx 300 \mu\text{m}$  at 1 THz) we succeed to observe subwavelength changes in axon geometry. Finally, we demonstrate the potential of ionic contrast terahertz near-field imaging in biological samples as a noninvasive and quantitative technique, by precisely studying the influence of Na loading on the axon geometry and water content, induced by adding Na channel toxin or by lowering the axon temperature.

## Results and Discussion

**Terahertz Ion Spectroscopy.** In a first step, we have to evaluate the relative contribution of the bulk water to the overall absorption of ionic solution. Water absorption in the terahertz domain has already been reported in the recent literature (12). Water

presents reasonably low attenuation below 1 THz (13). Field absorption is, for instance,  $75 \text{ cm}^{-1}$  at 0.5 THz. This makes tractable terahertz measurements on water-rich samples of up to few hundreds micrometers thickness opening the way to cell and more specifically neuron imaging. It is noteworthy that in living tissues the most relevant ions are  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ , and  $\text{Ca}^{++}$ . We have performed time domain spectroscopy to record ionic terahertz absorption profiles. The data presented in Fig. 1 reveal that KCl and  $\text{CaCl}_2$  isotonic solutions absorb about three times more than NaCl, within the 0.1–2 THz spectral window. The ionic absorption band is very similar to the one of bulk water, exhibiting no specific features. Therefore, the absorption results from the modification of the dielectric properties of the water solvent by the surrounding ions. In a Debye model (14), absorption originates from the diffusive relaxation of induced polarization. Ions induce relaxation diffusion modifications by altering the water structure in the surrounding water shells. The spectral absorption around 1 THz is often referred to ion-pair relaxation processes (15). Comparison between  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  data indicates stronger absorption by  $\text{K}^+$ , consistent with the fact that  $\text{K}^+$  surrounding water shell is smaller than for  $\text{Na}^+$  and then allows more profound ion-pair interaction. Quantitative comparison between ions is straightforward for the monovalent  $\text{K}^+$  and  $\text{Na}^+$  ions. For  $\text{CaCl}_2$ , we can only give an upper limit. However,  $[\text{Ca}^{++}]$  inside and outside neurons are negligible compared with  $[\text{K}^+]$  and  $[\text{Na}^+]$ , at least by two orders of magnitude. As a consequence,  $[\text{K}^+]$  and  $[\text{Na}^+]$  millimolar changes are essentially responsible to imaging contrast. Therefore, ionic terahertz absorption technique allows the noninvasive measurement of the ionic content in living tissues.

**Transverse Section of Axon.** The demonstration of terahertz near-field neuron imaging with a  $200\text{-}\mu\text{m}$  aperture diameter is depicted in Fig. 2, showing transverse scans of the same axon, bathed in a physiological solution. As in all our ionic contrast terahertz measurements, the delay remains fixed, and the amplitude of the terahertz signal is recorded versus the position of the axon. In this experiment,  $[\text{K}^+]_0$  was progressively increased from physiological  $[\text{K}^+]_0$  (2.5 mM), to a concentration matching the one inside the neuron (95 mM). First, as expected from relative absorption efficiency between  $\text{K}^+$  and  $\text{Na}^+$ , we observe a strong contrast between inside neuron, where the absorption value is higher, and the extracellular solution, revealing a highly contrasted neuron profile. When  $[\text{K}^+]_0$  matches the intracellular  $\text{K}^+$  concentration  $[\text{K}^+]_i$ , no signal modulation is observed, demonstrating that the contrast is indeed generated by ion differential absorption, and that the contribution of the membrane to the signal and that of all other tissues that would have remained is completely negligible. Electrophysiological record-

Conflict of interest statement: No conflicts declared.

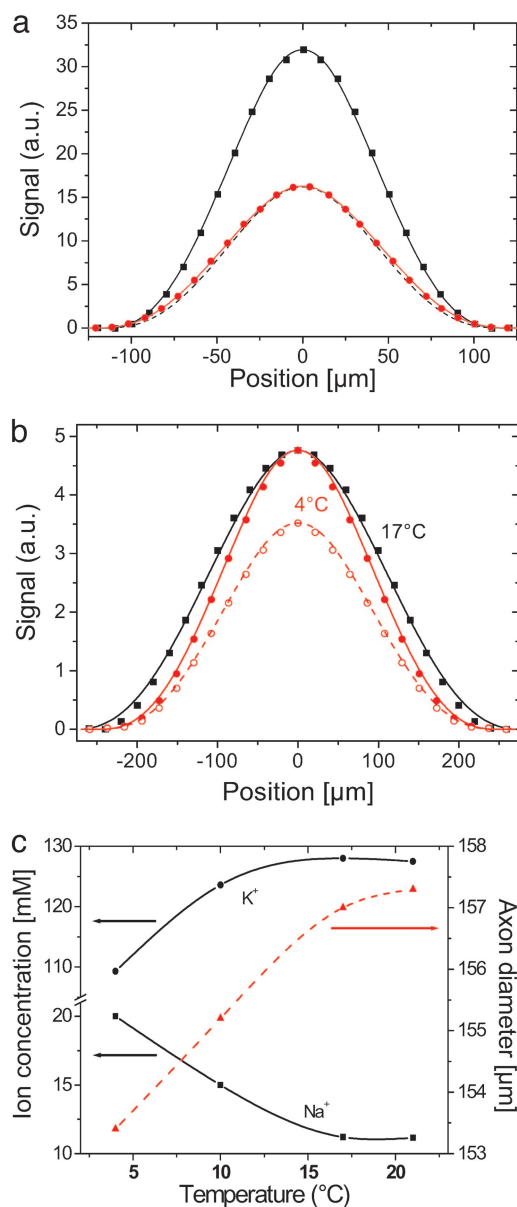
This paper was submitted directly (Track II) to the PNAS office.

Abbreviation: FEM, finite element method.

\*To whom correspondence should be addressed. E-mail: guilhem.gallot@polytechnique.fr.

© 2006 by The National Academy of Sciences of the USA





**Fig. 4.** Effect of axonal Na loading. (a) Effect of Na-channel activator. Scans of neuron bathed in physiological solution before (black squares) and 2 h after (red circles) veratridine ( $5 \mu\text{M}$ ) addition. The change in neuron profile due to veratridine is emphasized by the dotted line, which is proportional to the reference scan. The axon diameter increase ratio was  $1.112 \pm 0.001$  (from  $70$  to  $78 \mu\text{m}$ ) and corresponds to an influx of  $0.91 \pm 0.01 \text{ pl}/\mu\text{m}$  neuron. The aperture diameter was  $100 \mu\text{m}$ , and the spatial stepping size was  $10 \mu\text{m}$ . Fits (solid lines) are from FEM simulations. (b) Effect of temperature change. Axon profiles data recorded at  $4^\circ\text{C}$  (red circles) and  $17^\circ\text{C}$  (black squares). To visualize the profile change due to diameter increase when temperature rises, original data at  $4^\circ\text{C}$  (open circles) were also normalized (filled circles). Here, the aperture diameter was  $200 \mu\text{m}$ , because the axon diameter was larger than the one in a, and the spatial stepping size was  $20 \mu\text{m}$ . Line-fits were obtained from FEM simulations. (c) Axon diameter, and  $[\text{K}^+]_i$  and  $[\text{Na}^+]_i$  concentrations versus temperature, extracted from neuron profiles. The relative axon diameter increase was  $1.025 \pm 0.001$  (from  $153$  to  $157 \mu\text{m}$ ), simultaneously with an influx of potassium and efflux of sodium. The overall water influx was  $0.93 \pm 0.01 \text{ pl}/\mu\text{m}$ .

decrease reveals the membrane depolarization that is the direct consequence of the veratridine-induced  $\text{Na}^+$  influx into the neuron. A careful analysis reveals that the shape of the neuron is weakly but noticeably modified, involving associated trans-

membrane water fluxes. Initial axon diameter is found to be  $70 \mu\text{m}$ , and the increase diameter ratio is  $1.112 \pm 0.001$ . The precision of the relative diameter changes is due to the high sensitivity of the recorded signal profiles with respect to the relative diameter variations. The precision is given by the maximum deviation of data from numerical fit and is much smaller than the near-field aperture size thanks to the experimental high signal-to-noise ratio. The diameter increase leads to a final axon diameter of  $78 \mu\text{m}$ . Diameter increase corresponds to a water influx of  $0.91 \pm 0.01 \text{ pl}$  per  $\mu\text{m}$  of axon length. In a second set of experiments, we studied the effect of temperature. Low temperature is known to reversibly decrease the activity of the Na/K ATP-dependent exchanger leading to opposite variation in intraaxonal  $\text{K}^+$  and  $\text{Na}^+$  concentrations (17). An axon sample in physiological solution has been thermalized at  $4^\circ\text{C}$  during 12 h and rewarmed to  $17^\circ\text{C}$ . Then, the axon profile ( $200\text{-}\mu\text{m}$  aperture diameter) versus temperature has been recorded over a period of 30 min, as presented in Fig. 4b. We observe an increase of the relative absorption of terahertz radiation by the axon with respect to the temperature increase (Fig. 4). Axon diameter,  $[\text{K}^+]_i$ , and  $[\text{Na}^+]_i$  are also extracted in Fig. 4c. The initial diameter of the axon is  $153 \mu\text{m}$ . The diameter increase ratio is  $1.025 \pm 0.001$ , associated with an influx of  $\text{K}^+$  and an efflux of  $\text{Na}^+$ . The overall water input is  $0.93 \pm 0.01 \text{ pl}/\mu\text{m}$  of axon length. An estimate of the impact of water swelling on the axon conductivity properties can be inferred from the previous measurements. First, it modifies the action potential velocity and time course. According to calculation by Debanne *et al.* (18), a 10% increase in axon diameter leads to a signal velocity increases by 10% and a decrease of delay by 10%. Second, it strongly influences axonal propagation through branches, as given by the geometrical ratio at branch points. Considering a mother axon branch dividing into two identical daughter branches, a 10% increase of the mother axon diameter leads to a change of geometrical ratio of  $>25\%$ , which gives propagation delays mismatch as well as imperfect signal transmission. Furthermore, the physical origin of the contrast in the increasingly popular diffusion weighted imaging technique is still actively discussed (19, 20). In diffusion weighted imaging, measurement of apparent diffusion coefficient of water plays a major role in brain activity signature. Measuring water influx is then a key element for the understanding and calibrating of diffusion-weighted imaging. Modelization of nerve membranes emphasizes the dependence of apparent diffusion coefficient with respect to the geometrical dimensions of the axon, proportional to the surface-to-volume ratio (21).

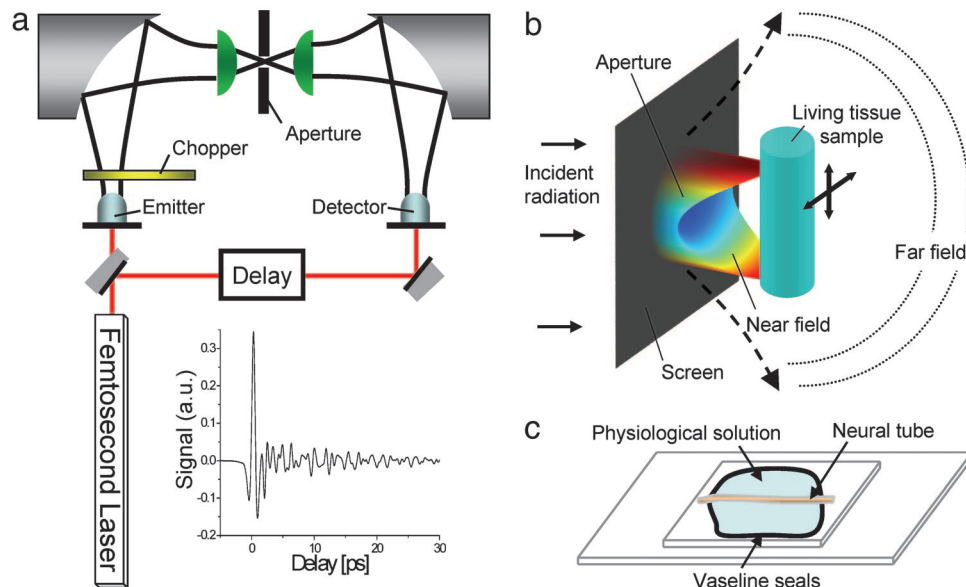
## Conclusions

In conclusion, this work demonstrates that terahertz near-field microscopy allows functional imaging of excitable living cells and reveals that axonal Na accumulation is associated with water exchange between intraaxonal and extracellular compartments. Variations as small as  $10 \mu\text{M}$  of ion concentration and  $20 \text{ fl}$  of water volume have been successfully detected by using a non-invasive, nonperturbative technique.

## Materials and Methods

**Terahertz Near-Field Imaging.** In our experiment, we generated and coherently detected broadband polarized single cycle pulses of terahertz radiation by illuminating photoconductive antennas with two synchronized femtosecond laser pulses (22, 23), as illustrated in Fig. 5a. The incident THz beam was modulated by a chopper, and a lock-in amplifier detected the current induced by the transmitted terahertz radiation in the detector. Near-field microscopy with aperture (24–26) was performed by focusing the terahertz radiation with a hyper-hemispherical Teflon lens onto a subwavelength-diameter hole and provided a high-precision, background-free signal (Fig. 5b). Moving the sample





**Fig. 5.** Setup. (a) Terahertz generation and detection with photoconductive antenna. A femtosecond pulse generates terahertz pulses, which propagate through free space, and which is detected in amplitude by the detector antenna. A chopper and lock-in device allows one to record the amplitude of the electric field, as shown in the *Inset*. (b) Setup for near-field microscopy with aperture. Terahertz radiation was focused onto a sub-wavelength hole by a hyper-hemispherical Teflon lens. The living tissue sample was put behind the hole, and the transmitted terahertz pulse was focused by another hemispherical lens to the photoconductive detector. Near-field distribution shows highly anisotropic electric field spatial profile at the output of the hole, computed by 3D FEM. (c) The central neural tube of *L. terrestris* worm was glued on a 200- $\mu\text{m}$ -thick glass microscope plate (microcover glass 24  $\times$  50 mm; Erie Scientific, Portsmouth, NH), by Vaseline seals (100  $\mu\text{m}$ ), bathed in a physiological solution, and covered by a second 18  $\times$  18-mm microcover plater. Constant sample thickness was obtained by a calibrated intercalary. The composition of the physiological solution was 110.5 mM NaCl, 2.5 mM KCl, 2 mM  $\text{CaCl}_2$ , and 10 mM Hepes (NaOH) buffer (pH 7.35).

closely to the aperture, one can generate an image at a resolution only dependent on the aperture size (25). The hole in the metallic screen breaks the wave and re-emits a polarized terahertz pulse with much higher spatial frequency. Furthermore, the electric field has a highly anisotropic spatial profile that is the cause of the higher spatial frequency. The size of the hole results from a compromise between spatial resolution, proportional to the cube of the diameter, and radiation transmission (27). The axon was positioned closely behind the subwavelength hole, and the transmitted terahertz radiation was focused by another hemispherical lens to the photoconductive detector. During imaging, the delay between the two femtosecond pulses remained constant, the amplitude of the transmitted terahertz beam was recorded, and the position of the axon was controlled by a three-axis micrometric displacement stage. Under near-field condition, a signal-to-noise ratio of  $10^3$  was obtained during 10-s acquisition time.

Terahertz time-domain spectroscopy (12, 28, 29) is a well established terahertz technique, using the same polarized single-cycle pulses of terahertz radiation used for near-field imaging. The input single cycle pulse is sent through the sample containing the ions to be measured, and the propagated electric field is recorded in time. The sample was double deionized water with precise control of added quantities of KCl, NaCl, or  $\text{CaCl}_2$ . A reference scan was also recorded with the sample containing only water. Fourier transform directly provided the complex amplitude spectrum of the fields. Consequently, the ratio of the amplitude modules of the propagated and reference spectra gave direct access to the terahertz absorption of the sample. The 100- $\mu\text{m}$ -thick liquid sample was contained in a polyethylene cell with 5-mm-thick walls, to avoid multiple reflection and Fabry-Perot effects during the scans. Spectral resolution of 10 GHz was achieved with scan duration of 50 ps, with signal-to-noise ratio of  $10^3$ . For each ion, several samples with different millimolar concentrations were used, exhibiting linear behavior of the

resulting absorption, and providing the ion molar absorption coefficient over the 0.1–2 THz range.

**Biological Sample.** We chose the axon of the neural tube dissected from earth worms *Lumbricus terrestris* (30) (Fig. 5c). This axon (from 50 to 150  $\mu\text{m}$  in diameter) remains alive for >10 h after dissection. Axons were glued on a 200- $\mu\text{m}$ -thick glass microscope plate by means of Vaseline (petroleum jelly) seals (100- $\mu\text{m}$  diameter), bathed in physiological solution, and covered by a second microcover plate.

**Numerical Simulations and Geometry Deconvolution.** Interpretation of the ionic contrast terahertz near-field imaging measurements requires the calculation of the propagation of the electromagnetic fields exiting the subwavelength hole through the neuron. The procedure was divided into two separate steps. First, we calculated the repartition of the complex electric field on the subwavelength hole alone (diameter  $d$ ), by performing a direct resolution of Maxwell's equations through a full 3D *ab initio* FEM analysis (FEMLAB V.3.1; COMSOL, Burlington, MA). The simulation takes into account the finite metal conductivity as well as the depth of the metallic sheet and the surrounding cover plate. With the appropriate meshing conditions, we obtained the electric field with a spatial resolution of <50 nm. Second, we propagate the calculated electric field through the biological sample using Green function formalism (31). Indeed, 3D numerical simulations demonstrated that the influence of the presence of the neuron near the hole can be neglected under our experimental conditions. More precisely, we modeled the neuron in the simulation box as an infinitely thin membrane tube separating two differently absorbing media. We found that the change in the electric field on the subwavelength aperture remained below 1% when the hole–neuron distance was larger than 30  $\mu\text{m}$ . In our experiment, the distance always remained above 100  $\mu\text{m}$ , due to the presence of the cover plate. In these conditions, one can assume that the previously calculated elec-

tric field, namely  $E_0$ , is not perturbed by the neuron. The resulting electric field  $E'$  after the neuron was given by

$$E'(x, y) = \iiint_{\text{hole } L} G(a, b, x - x_n - X, y - Y, Z) \cdot E_0(d, X, Y, 0) dXdYdZ,$$

where  $x_n$  is the position of the neuron,  $a$  and  $b$  are the transverse and longitudinal neuron diameters, and  $G(a, b, X, Y, Z)$  is the Green function, which is the sum of the Green function  $e^{ikr_1}/r$  related to the homogeneous surrounding liquid and the one inside the neuron  $e^{ikr_2}/r$ . The Green function was discretized over the spatial grid and propagated. The signal  $S(x_n)$  measured in our experiment was then obtained by integrating  $E'(x, y)$ . It follows

$$S(x_n) = \iint_{\text{meas.}} E'(x, y) dx dy.$$

We can now compare the calculated profile  $S(x_n)$  with experimental data with a least-squares fitting procedure and then extract the neuron parameters  $a$  and  $b$ . It should be emphasized that the two neuron diameters can be independently obtained. The transverse diameter  $a$  was only determined by the shape of the measured profile and was independent on the absorption

parameters encountered during the propagation. On the contrary, the longitudinal diameter required taking into account the amplitude of the profile and then the absorption. The precision on the determination of  $a$  and  $b$  in our experiment was better than  $10^{-2}$ . However, the precision on the relative variations of  $a$  increased by an order of magnitude, due to the number of points taken into account to extract the data and the insensitivity with respect to absolute absorption. Precision on the ellipticity was therefore of  $\approx 2\%$ . All of the fits shown in Figs. 2 and 4 were obtained by using such a procedure. We can notice the quality of the agreement between data and fits, responsible for the high precision in the determination of the neuron geometry. The robustness of this technique needs now to be discussed. First, we used FEM frequency domain simulations, whereas the recorded signals are in the time domain. This was justified by the proportionality between the absorption spectra of the main ions involved in this study ( $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$ ), as shown in Fig. 1. Therefore, a single frequency analysis was a very good approximation. We demonstrated that the variation of the time delay of the pulse was negligible compared with amplitude (below  $10^{-2}$ ), by comparing the time profiles of  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  solutions. Geometrical drifts due to residual inhomogeneous sample thickness were controlled by the signal baselines. An important point related to the temperature was also been checked. We measured spectra of controlled  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  solutions versus the temperature. Even though the fundamental properties of these liquids (density, refractive indices, absorption) are temperature-dependent, we did not observe measurable variations of spectra over the 4–20°C range. Variations were below our experimental precision.

- Mittleman, D. (2003) in *Sensing with Terahertz Radiation* (Springer, Berlin).
- Mittleman, D. M., Jacobsen, R. H. & Nuss, M. C. (1996) *IEEE J. Quantum Electron.* **2**, 679–692.
- Löffler, T., Bauer, T., Siebert, K. J., Roskos, H. G., Fitzgerald, A. & Czasch, S. (2001) *Opt. Exp.* **9**, 616–621.
- Fitzgerald, A. J., Berry, E., Zinovev, N. N., Walker, G. C., Smith, M. A. & Chamberlain, M. A. (2002) *Phys. Med. Biol.* **47**, R67–R84.
- Woodward, R. M., Cole, B. E., Wallace, V. P., Pye, R. J., Arnone, D. D., Linfield, E. H. & Pepper, M. (2002) *Phys. Med. Biol.* **47**, 3853–3863.
- Crawley, D., Longbottom, C., Wallace, V. P., Cole, B. E., Arnone, D. D. & Pepper, M. (2003) *J. Biomed. Opt.* **8**, 303–307.
- Wang, K. & Mittleman, D. M. (2004) *Nature* **432**, 376–379.
- Jeon, T.-I. & Grischkowsky, D. (2004) *Appl. Phys. Lett.* **85**, 6092–6094.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. (2002) *Molecular Biology of the Cell* (Garland Science, New York).
- Hamil, O. P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B. & Sigworth, F. J. (1981) *Pflügers Arch.* **391**, 85–100.
- Dai, J., Sheetz, M. P., Wan, X. & Morris, C. E. (1998) *J. Neurosci.* **18**, 6681–6692.
- Asaki, M. L. T., Redondo, A., Zawodzinski, T. A. & Taylor, A. J. (2002) *J. Chem. Phys.* **116**, 8469–8482.
- Ronne, C., Astrand, P.-O. & Keiding, S. R. (1999) *Phys. Rev. Lett.* **82**, 2888–2891.
- Debye, P. (1929) *Polar Molecules* (Dover, New York).
- Max, J.-J. & Chapados, C. (2001) *J. Chem. Phys.* **115**, 2664–2675.
- Balerna, M., Fosset, M., Chicheportiche, R., Romey, G. & Lazdunski, M. (1975) *Biochemistry* **14**, 5500–5511.
- Marmor, M. F. (1975) *Prog. Neurobiol.* **5**, 167–195.
- Debanne, D. (2004) *Nat. Rev. Neurosci.* **5**, 304–316.
- Darquié, A., Poline, J.-B., Poupon, C., Saint-Jalmes, H. & Bihan, D. L. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 9391–9395.
- Bihan, D. L. (2003) *Nat. Rev. Neurosci.* **4**, 469–480.
- Latour, L. L., Svoboda, K., Mitra, P. P. & Sotak, C. H. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 1229–1233.
- Auston, D. H. & Nuss, M. C. (1988) *IEEE J. Quantum Electron.* **24**, 184–197.
- Fattinger, C. & Grischkowsky, D. (1989) *Appl. Phys. Lett.* **54**, 490–492.
- Betzig, E. & Trautman, J. K. (1992) *Science* **257**, 189–195.
- Pool, R. (1988) *Science* **241**, 25–26.
- Hunsche, S., Koch, M., Brener, I. & Nuss, M. (1998) *Opt. Commun.* **150**, 22–26.
- Ohtsu, M. & Kobayashi, K. (2004) *Optical Near Fields* (Springer, Berlin).
- Grischkowsky, D., Keiding, S. R., van Exter, M. & Fattinger, C. (1990) *J. Opt. Soc. Am. B* **7**, 2006–2015.
- Gallot, G., Zhang, J., McGowan, R. W., Jeon, T.-I. & Grischkowsky, D. (1999) *Appl. Phys. Lett.* **74**, 3450–3452.
- Moon, A. & Smith, T. (2005) *Soil Biol. Biochem.* **37**, 1211–1213.
- Born, M. & Wolf, E. (1997) in *Principles of Optics* (Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K.), 6th Ed.

## Coupling between surface plasmons in subwavelength hole arrays

Jean-Baptiste Masson and Guilhem Gallot\*

*Laboratoire d'Optique et Biosciences, Ecole Polytechnique - CNRS UMR 7645 - INSERM U696, 91128 Palaiseau, France*

(Received 23 January 2006; published 13 March 2006)

The coupling between the surface plasmons of two overlapping arrays of orthogonally oriented subwavelength elliptical holes has been demonstrated by terahertz time-domain spectroscopy over the 0.1–1 THz range. This enhanced transmission exhibits polarization sensitive frequency shift. Three-dimensional numerical simulations provide precise insight in the energy redistribution of the surface plasmons through the subwavelength holes. A simple theoretical model, demonstrating a strong coupling between the two subarrays, exhibits good agreement with the experimental data.

DOI: 10.1103/PhysRevB.73.121401

PACS number(s): 78.20.Ci, 41.20.Jb, 42.79.Dj, 73.20.Mf

In the recent years, the demonstration of a strong and unexpected enhancement of light transmission through arrays of subwavelength holes<sup>1</sup> has generated numerous experimental and theoretical works. Enhancement of several order of magnitudes has been reported,<sup>2</sup> with respect to standard aperture theory.<sup>3,4</sup> The transmission can even exceed the surface ratio occupied by the holes, implying that light is focused by the structure of the arrays through the holes. This extraordinary transmission is generally admitted to be due to excitation of surface plasmons (SPs) on the upper and lower surfaces of the metallic array.<sup>5–7</sup> These results are stimulating in numerous fields:<sup>8–11</sup> Near-field microscopy, high-density storage, detection of molecules of chemical and biological interest, photolithography, and light-emitting diodes (LEDs). Since this discovery, many experiments have been performed to characterize and modelize this abnormal transmission, in the optical,<sup>7,8,12–19</sup> infrared,<sup>20,21</sup> and terahertz ranges.<sup>5,22–25</sup> These studies involved the influence of shape and hole diameter,<sup>6,14,26,27</sup> lattice geometry,<sup>1</sup> or film thickness,<sup>15</sup> but so far only arrays of identical holes have been investigated, and the true influence of the shape of the holes on the SP generation still remained sketchy, in particular on the frequency shifts associated with.

In this letter, we demonstrate, experimentally and theoretically, enhanced transmission with polarization sensitive frequency shifts, which arises from the coupling between SPs modes from two overlapping arrays of orthogonally oriented subwavelength elliptical holes. Furthermore, we establish the complex link between the shape of the holes and the properties of the surface plasmons, in particular its frequency resonance, and this leads to the validation of the Fano model for SPs. The array is made of a free-standing thin metal plate. The enhanced transmission of the array is measured by terahertz time-domain spectroscopy (THz-TDS).<sup>28</sup> Broadband linearly polarized subpicosecond single cycle pulses of terahertz radiation are generated and coherently detected by illuminating photoconductive antennas with two synchronized femtosecond laser pulses. Rotation of the sample with respect to the linear incident polarization allows us to investigate the nature of the coupling between the SPs. Numerical Fourier transform of the time-domain signal gives access to the characteristic transmission spectrum of the array.

The sample is a free-standing 18- $\mu\text{m}$ -nickel-plate array of subwavelength elliptical holes, fabricated by electroforming.

The array has a  $L=600\ \mu\text{m}$  period, with  $400\times 200\ \mu\text{m}$  ellipses, whose long axis are alternatively aligned along the  $x$  and  $y$  directions (inset of Fig. 1). The total array is then made of two ellipse subarrays, one with the ellipse long axis along  $x$  ( $x$ -ellipse) and the other along  $y$  ( $y$ -ellipse). The total array is then anisotropic, the periodicity is  $1200\ \mu\text{m}$  along  $x$  and  $600\ \mu\text{m}$  along  $y$ . The precision for the hole dimensions and periodicity is better than  $1\ \mu\text{m}$ . The aperture ratio to the total plate area is about one-sixth, equivalent to the geometric transmission. The sample is positioned on a 10-mm-circular aperture, in the linearly polarized, frequency independent, 4.8-mm-waist Gaussian THz beam ( $1/e$  in amplitude). A precise rotation stage adjusts the angle  $\theta$  between axis  $x$  of the array and the linear THz polarization. The dynamics of the surface plasmons is then recorded during 150 ps, yielding a 8-GHz-frequency precision after numerical Fourier transform. A reference scan is taken with empty aperture.

The transmission of the metal array is calculated by the amplitude ratio of the complex spectra of the metal plate and reference scan for several polarization orientations, as given in Fig. 1. For each orientation, we observe a strongly enhanced resonance peak between 0.4 and 0.5 THz, followed at higher frequency by a much broader continuumlike area.

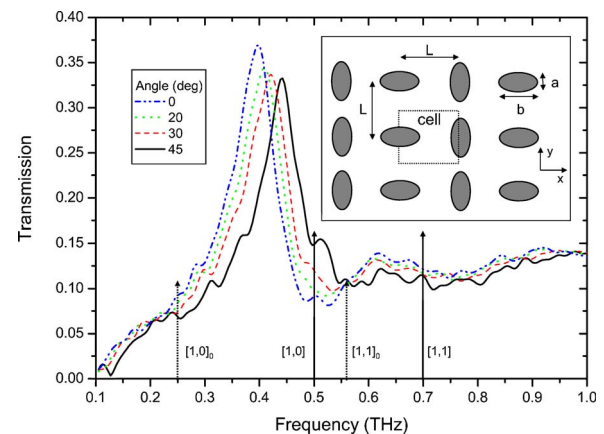


FIG. 1. (Color online) Experimental amplitude transmission, for incident linear polarization at 0, 20, 30, and 45°. The vertical arrows show the position of the integer modes of the total array  $[i,j]$  and the subarrays  $[i,j]_0$ . The inset depicts the periodic structure of the ellipses.  $L=600\ \mu\text{m}$ ,  $a=200\ \mu\text{m}$ ,  $b=400\ \mu\text{m}$ .

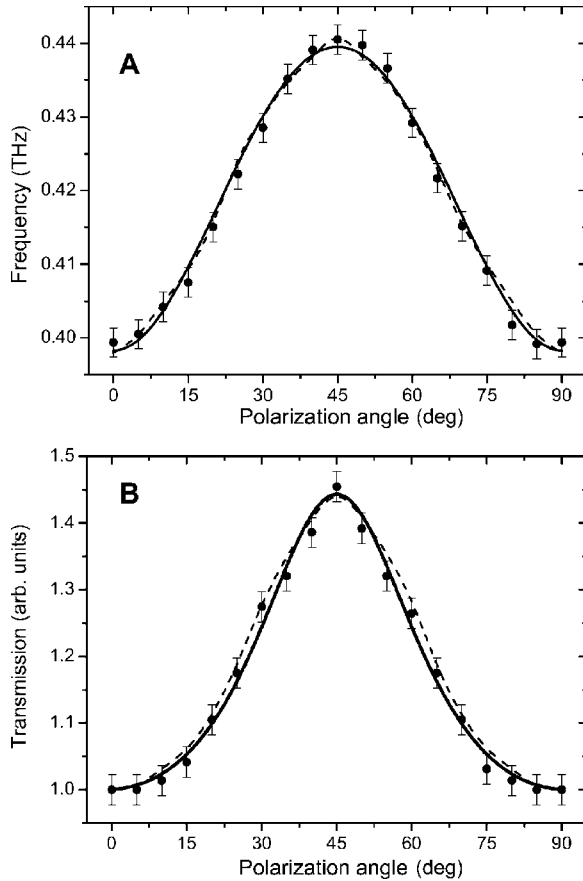


FIG. 2. Resonance frequency shift (A) and amplitude transmission at 0.5 THz (B) versus incident polarization angle. Experimental data (dots) are compared to numerical simulations (dashed line) and theoretical model (solid line). For the model,  $A=0.117$  THz and  $B=0.15$  THz.

The amplitude enhancement, compared to the geometrical transmission is 2 (4 in power transmission). We also notice a strong shift of the resonance frequency with respect to the incident polarization, as shown in Fig. 2(A), contrary to previous work on identical ellipse arrays.<sup>14</sup> The resonance frequency is 0.40 THz for the linear polarization along the  $x$  axis, and 0.44 THz at  $45^\circ$ , corresponding to a 10% relative shift. This shift is symmetric with respect to  $45^\circ$  within experimental precision. Furthermore, none of the resonance frequencies coincides with the integral orders of SP modes  $\nu(i, j) = \frac{c}{L} \sqrt{i^2 + j^2}$ ,<sup>1</sup> where  $i$  and  $j$  are integers, as depicted by the vertical solid arrows in Fig. 1. Likewise, these new frequencies cannot originate in one of the subarrays, whose resonance frequencies are given by  $\nu(i, j)_0 = \frac{c}{2L} \sqrt{4i^2 + j^2}$  (vertical dashed arrows in Fig. 1). The normalized amplitude variations at 0.5 THz [Fig. 2(B)] also exhibit the same symmetry. This frequency has been chosen as the first resonant mode from integral order theory [1, 0]. The amplitude is normalized, so that the transmission is 1 at  $\theta=0^\circ$ .

To get a better picture of these new resonances, we have performed numerical simulations. We carried out a direct resolution of Maxwell's equations through a full three-dimensional (3D) ab initio finite element method (FEM) analysis of the electric field propagating through the array.<sup>29</sup>

This method provides quantitative information on the SP distribution in the metal array. It allows the calculation of the transmitted THz electromagnetic field and takes into account the near-field effects on the array. To reduce the size of the simulation box, we used a unitary cell of two halves of the ellipses (see inset of Fig. 1), with adequate symmetry conditions. The complex electromagnetic fields have been calculated in two sets of simulations, for an incident plane wave of linear polarization in the  $x$  and  $y$  directions, namely  $\mathbf{E}_x$  and  $\mathbf{E}_y$ . This allows the calculation of the fields for any orientation of the polarization by  $\mathbf{E}(\theta) = \mathbf{E}_x \cos(\theta) + \mathbf{E}_y \sin(\theta)$ . The precision of the simulations are controlled by progressively reducing the adaptive mesh size, in particular in the elliptical holes. Typical mesh dimensions are  $\lambda/700$  in the holes and  $\lambda/5$  outside, yielding precision better than 0.5%. The relative permittivity of nickel is  $\epsilon = -9.7 \times 10^3 + 1.1 \times 10^5 i$ , and relative permeability is 100.<sup>30,31</sup>

We calculated the electric field density at 0.44 THz, on the output hole and metal surface of the array, using the same dimensions as in the experiment, for three incident polarization orientations:  $\theta=45^\circ$  [Fig. 3(A)],  $30^\circ$  [Fig. 3(B)], and  $60^\circ$  [Fig. 3(C)]. The field density is characteristic of the SP at the surface of the metal. A strong anisotropy of the density can be observed, correlated with high-field density in the elliptical holes and in particular on the edges. The field concentration on the ellipse edges goes far below the wavelength, typically  $\lambda/50$ , which is characteristic of near-field interactions. We also notice a complex pattern at the surface of the metal. These density-line loops are highly evocative of the SPs on metal.<sup>7</sup> For  $\theta=45^\circ$ , the energy density is approximately equally distributed between the  $x$  and  $y$  ellipse [Fig. 3(A)]. It is slightly higher in the  $x$  ellipse due to the structure anisotropy of the total array. A dramatic change in the density distribution occurs when the incident polarization is changed to  $\theta=30^\circ$  or  $\theta=60^\circ$ . The energy shifts toward the  $x$  ellipse at  $30^\circ$ , whereas it shifts toward the opposite direction ( $y$  ellipse) at  $60^\circ$ . The energy localization is then strongly controlled by the incident polarization direction. The resonant density-line loops are also affected, showing that the coupling between the  $x$  and  $y$  ellipse is modulated by the polarization. It should also be noted that more energy exits from the holes with polarization at  $45^\circ$  than at  $30^\circ$  or  $60^\circ$ , in agreement with data at 0.44 THz, suggesting a better coupling between the ellipses at  $45^\circ$ . To further study the coupling between the two subarrays, we computed the field pattern of each subarray independently. The difference between the field density of the total array and the sum of the field densities of both subarrays individually, at  $\theta=45^\circ$  is shown in Fig. 3(D). The difference clearly demonstrates that the total field distribution in the metal array cannot be described by the linear superposition of the two subarray contributions, and then implies polarization-dependent coupling between the subarrays. We calculated the transmission spectra from these 3D simulations. Results are depicted in Fig. 4. The computed spectra reproduce well the polarization-dependent behavior observed in the experiment, as well as the asymmetric Fano-type profiles. We also extracted from the computed spectra the resonance displacement and amplitude variations. The results [dashed lines in Figs. 2(A) and 2(B)] are in very good agreement with the experimental data, which validates the simulations.

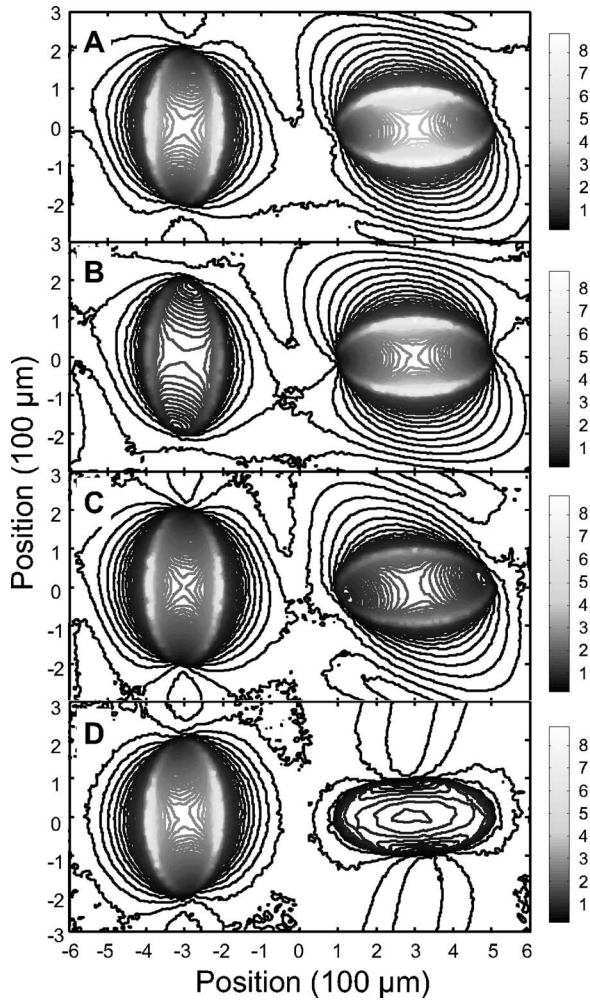


FIG. 3. (A)–(C) Numerical simulations of the total time-averaged  $|E|$  electric field on the surface of the array. Incident polarizations are  $45^\circ$ (A),  $30^\circ$ (B), and  $60^\circ$ (C) and frequency is 0.44 THz. (D) Difference between the field density of the total array and the sum of the densities for each subarray, at  $45^\circ$ . The gray scale is the same in all the pictures.

A simple picture of the coupling between the two subarrays can be obtained considering the superimposition of the two orthogonally-oriented ellipse subarrays. The abnormal transmission of each subarray is given by a Fano-type model,<sup>32</sup> which can be used to model the enhanced resonance profiles through subwavelength hole arrays.<sup>33</sup> It describes the coupling between a continuum of states  $|k\rangle$  from the scattering of the incident plane wave by the geometrical holes, and a resonant state  $|a\rangle$  from discrete resonant SP excitations of the illuminated interface of the array [see Fig. 5(A)]. The level of each subarray is given by the integral order mode, namely  $\nu(1,0)_0 = \nu_0 = 0.25$  THz. This means that each subarray exhibits a resonance frequency at 0.25 THz, and a Fano profile from the coupling with the continuum. The total array is the superimposition of the two subarrays, and is then described by the coupling of two degenerate levels  $|a\rangle$  and  $|b\rangle$  at 0.25 THz [see Fig. 5(B)]. When the two subarrays are identical, the matching is perfect and the result is equivalent to an array with half the initial period and then a resonance

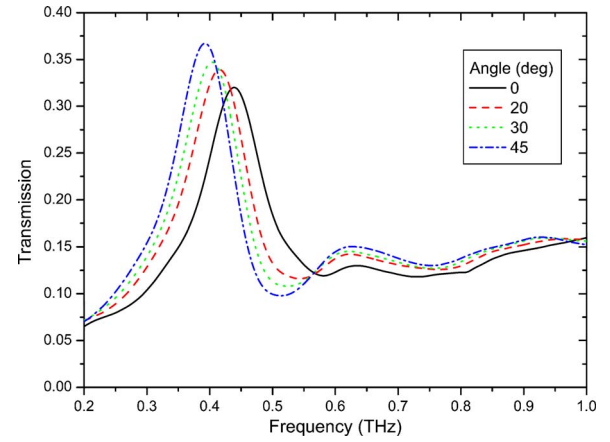


FIG. 4. (Color online) Transmission amplitude spectra computed by three-dimensional finite element methods numerical simulations, for four incident polarization angles. Simulation parameters match the ones of the experiment.

frequency  $2\nu_0$ . The coupling can be a direct interaction between  $|a\rangle$  and  $|b\rangle$ , or it may involve an intermediate coupling with the continuum  $|k\rangle$ . The resulting Hamiltonian of these first- and second-order interactions is then given by the following matrix elements,<sup>34</sup> respectively,

$$\langle b|W|a\rangle = hA \sin 2\theta \quad (1)$$

and

$$\sum_{k \neq a,b} \frac{\langle b|W|k\rangle \langle k|W|a\rangle}{E_0 - E_k} = ihB, \quad (2)$$

where  $W$  is the coupling term,  $A$  and  $B$  are constants and  $E_0 = h\nu_0$ . The direct coupling between  $|a\rangle$  and  $|b\rangle$  is polarization sensitive because each subarray, due to its specific orientation, exhibits strong preferential polarization transmission.<sup>14</sup> The polarization sensitive  $\sin 2\theta$  coupling originates in the geometrical symmetries of the total array and is confirmed by the numerical simulation, where it is maximum at  $45^\circ$ . The complex value of the indirect interaction comes from the  $\pi/2$  dephasing between the transition amplitudes of the first- and second-order interactions. The Hamiltonian of the interaction is then

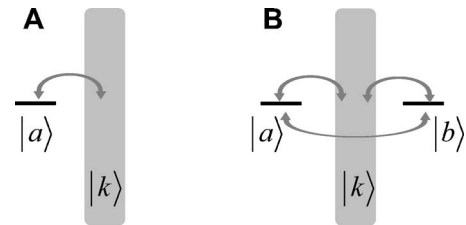


FIG. 5. (A) Fano model of a subwavelength hole array and the coupling between a continuum of states  $|k\rangle$  and a resonant level  $|a\rangle$ . (B). Extension to the coupling between two subarrays of resonant levels  $|a\rangle$  and  $|b\rangle$ .

$$H = h \begin{pmatrix} \nu_0 & 0 \\ 0 & \nu_0 \end{pmatrix} + h \begin{pmatrix} 0 & A \sin 2\theta + iB \\ A \sin 2\theta - iB & 0 \end{pmatrix}. \quad (3)$$

The total array is then similar to degenerate levels at 0.25 THz linked together by a polarization sensitive coupling. The eigenvalues of the Hamiltonian are

$$\nu_{\pm} = \nu_0 \pm \sqrt{\frac{1}{2}A^2(1 - \cos 4\theta) + B^2}. \quad (4)$$

Therefore, the coupling removes the degeneracy at 0.25 THz, predicting new frequencies, one redshifted ( $\nu_-$ ), the other blueshifted ( $\nu_+$ ). The blueshifted new level is easily assimilated to the observed enhanced resonance peak. The fit of the frequency shift [solid line in Fig. 2(A)] is excellent with  $A=0.117$  THz and  $B=0.15$  THz. The other level  $\nu_-$  lies below 0.1 THz. Therefore, the scattering efficiency is very weak and its influence can be neglected. We can define a matching efficiency  $\rho = (\nu_+ - \nu_0) / \nu_0$ , equal to 1 for a perfect matching and 0 for independent arrays. Here, the matching efficiency ranges from 60% at  $\theta=0^\circ$  and  $90^\circ$ , to 76% at  $\theta=45^\circ$ , showing a preferential shape matching of the orthogonal ellipses with the incident polarization at  $45^\circ$ . Furthermore, the amplitude modulation at 0.5 THz was calculated with the same coupling coefficient, with a Fano profile<sup>32</sup> for the resonance. The Fano profile parameters have been adjusted with the  $45^\circ$  data, and remain constant for the other frequencies. Once again, the agreement between this model and the experimental data is very good [Fig. 2(B)]. The polarization mediated strong coupling between the two subarrays allows the redistribution of the energy in holes, and then

favors the light transmission through the holes.

Comparison with Bloch wave analysis can be discussed here. Even though polarization dependence has been observed in elliptical arrays,<sup>35</sup> a simple model approach with symmetry consideration of Bloch waves would encounter major difficulties in our case. Indeed, this approach leads to linear amplitude superposition of Bloch modes, with no polarization global frequency shifts. Furthermore, a simple Bloch waves analysis does not reveal the whole complexity of the influence of the shape of the holes, as discussed in many papers.<sup>14,36,37</sup> Although a complex modelization, by the exact treatment of the symmetry properties of the lattice basis could probably be considered using Wannier functions formalism,<sup>38</sup> we can understand the observed data with a simple model.

In conclusion, we studied, experimentally and theoretically, the enhanced transmission from the overlapping of two subwavelength subarrays in the 0.1–1 THz range with 8 GHz resolution. The transmission spectra exhibits strong polarization sensitive frequency resonance shifts, at frequencies that are not predicted by the classical integer modes theory, and is an important result in favor of the Fano model for surface plasmons. This shift is found to be due to the strong coupling between the two subarrays, and has promising applications in tunable devices. Furthermore, numerical simulations point out the control of the energy distribution by the incident polarization, that will extend the potential of these subwavelength structures.

The authors acknowledge Francois Hache for helpful discussions.

\*Corresponding author. Email address: guilhem.gallot@polytechnique.fr

<sup>1</sup>T. W. Ebbesen *et al.*, Nature (London) **391**, 667 (1998).

<sup>2</sup>A. Nahata *et al.*, Opt. Lett. **28**, 423 (2003).

<sup>3</sup>H. A. Bethe, Phys. Rev. **66**, 163 (1944).

<sup>4</sup>C. J. Bouwkamp, Rep. Prog. Phys. **17**, 35 (1954).

<sup>5</sup>J. Gomez Rivas *et al.*, Phys. Rev. B **68**, 201306(R) (2003).

<sup>6</sup>D. Qu *et al.*, Opt. Lett. **29**, 896 (2004).

<sup>7</sup>W. L. Barnes *et al.*, Nature (London) **424**, 824 (2003).

<sup>8</sup>T. J. Kim *et al.*, Opt. Lett. **24**, 256 (1999).

<sup>9</sup>Y. Liu and S. Blair, Opt. Lett. **28**, 507 (2003).

<sup>10</sup>R. Sambles, Nature (London) **391**, 641 (1998).

<sup>11</sup>J. Vuckovic *et al.*, IEEE J. Quantum Electron. **36**, 1131 (2000).

<sup>12</sup>L. Martin-Moreno *et al.*, Phys. Rev. Lett. **86**, 1114 (2001).

<sup>13</sup>S. C. Hohng *et al.*, Appl. Phys. Lett. **81**, 3239 (2002).

<sup>14</sup>R. Gordon *et al.*, Phys. Rev. Lett. **92**, 037401 (2004).

<sup>15</sup>A. Degiron *et al.*, Appl. Phys. Lett. **81**, 4327 (2002).

<sup>16</sup>E. Altevischer *et al.*, Nature (London) **418**, 304 (2002).

<sup>17</sup>E. Devaux *et al.*, Appl. Phys. Lett. **83**, 4936 (2003).

<sup>18</sup>W. L. Barnes *et al.*, Phys. Rev. Lett. **92**, 107401 (2004).

<sup>19</sup>A. Dogariu *et al.*, Appl. Phys. B: Lasers Opt. **74**, S69 (2002).

<sup>20</sup>Q. Cao and P. Lalanne, Phys. Rev. Lett. **88**, 057403 (2002).

<sup>21</sup>Y.-H. Ye and J.-Y. Zhang, Appl. Phys. Lett. **84**, 2977 (2004).

<sup>22</sup>D. Qu and D. Grischkowsky, Phys. Rev. Lett. **93**, 196804 (2004).

<sup>23</sup>F. Miyamaru and M. Hangyo, Appl. Phys. Lett. **84**, 2742 (2004).

<sup>24</sup>J. G. Rivas *et al.*, Opt. Express **13**, 847 (2005).

<sup>25</sup>H. Cao and A. Nahata, Opt. Express **12**, 1004 (2004).

<sup>26</sup>T. Thio *et al.*, J. Opt. Soc. Am. B **16**, 1743 (1999).

<sup>27</sup>A. K. Azad *et al.*, Appl. Phys. Lett. **86**, 141102 (2005).

<sup>28</sup>D. Grischkowsky *et al.*, J. Opt. Soc. Am. B **7**, 2006 (1990).

<sup>29</sup>Femlab, Comsol Inc., Burlington, MA.

<sup>30</sup>M. A. Ordal *et al.*, Appl. Opt. **22**, 1099 (1983).

<sup>31</sup>*Magnetic Properties of Metals*, Landolt-Bornstein, Group III: Condensed Matter (Springer-Verlag, Berlin, 1986).

<sup>32</sup>U. Fano, Phys. Rev. **124**, 1866 (1961).

<sup>33</sup>C. Genet *et al.*, Opt. Commun. **225**, 331 (2003).

<sup>34</sup>C. Cohen-Tannoudji *et al.*, *Atom-Photon Interactions: Basic Processes and Applications* (Wiley-Interscience, New York, 1998).

<sup>35</sup>J. Elliott *et al.*, Phys. Rev. B **70**, 233403 (2004).

<sup>36</sup>Q.-J. Wang *et al.*, Appl. Phys. Lett. **87**, 091105 (2005).

<sup>37</sup>K. J. Klein Koerkamp *et al.*, Phys. Rev. Lett. **92**, 183901 (2004).

<sup>38</sup>C. Kittel, *Introduction to Solid State Physics* (Wiley, Chichester, 1996).

# True near field versus contrast near field imaging

Jean-Baptiste Masson and Guilhem Gallot

Laboratoire d'Optique et Biosciences, Ecole Polytechnique, CNRS UMR 7645, INSERM U696  
91128 Palaiseau, France

[Jean-Baptiste.Masson@polytechnique.edu](mailto:Jean-Baptiste.Masson@polytechnique.edu)

[Guilhem.Gallot@polytechnique.edu](mailto:Guilhem.Gallot@polytechnique.edu)

**Abstract:** We demonstrate that in near field imaging, interaction between light and sample can be divided into two main areas: the true near field and the contrast near field domain. We performed extensive numerical simulations in order to identify the limits of these areas, and to investigate contrast near field imaging in which much easier propagation calculation can be achieved. Finally, we show an application with terahertz axonal imaging.

© 2006 Optical Society of America

**OCIS codes:** 110.0180 Microscopy, 260.1960 Diffraction Theory, 260.3090 Infrared, far

---

## References and links

1. A. Lewis, H. Taha, A. Strinkovski, A. Manevitch, A. Khatchatourians, R. Dekhter and E. Ammann, "Near-field optics: from subwavelength illumination to nanometric shadowing," *Nature biotechnology* **21**, 1378–1386 (2003).
2. Y. Lu, T. Wei, F. Duewer, Y. Lu, N.-B. Ming, P. G. Schultz, and X.-D. Xiang, "Nondestructive Imaging of Dielectric-Constant Profiles and Ferroelectric Domains with a Scanning-Tip Microwave Near-Field Microscope," *Science* **276**, 2004–2006 (1997).
3. D. Marks and P.S. Carney, "Near-field diffractive elements," *Opt. Lett.* **30**, 1870–1872 (2005).
4. S.I. Bozhevolnyi and B. Vohnsen, "Near-Field Optical Holography," *Phys. Rev. Lett.* **77**, 3351 (1996).
5. M. Naruse, T. Yatsui, W. Nomura, N. Hirose, M. Ohtsu, "Hierarchy in optical near-fields and its application to memory retrieval," *Opt. Express* **13**, 23, 9265–9271 (2005), <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?id=86211>
6. D. Molenda, G. Colas des Francs, U. C. Fischer, N. Rau, A. Naber, "High-resolution mapping of the optical near-field components at a triangular nano-aperture," *Opt. Express* **26**, 23, 10688–10696 (2005), <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?id=86673>
7. Comsol, Comsol Inc., Burlington, MA.
8. M. A. Bhatti, "Fundamental Finite Element Analysis and Applications: With Mathematica and Matlab Computations," (J. Wiley & Sons,) (2005)
9. M. Golosovsky, E. Maniv, D. Davidov and A. Frenkel, "Near-Field of a Scanning Aperture Microwave Probe: A 3-D Finite Element Analysis," *IEEE. Trans. Instr. Meas.* **51**, 1090 (2002).
10. J.-B. Masson and G. Gallot, "Coupling between surface plasmons in subwavelength hole arrays," *Phys. Rev. B.* **73**, (2006).
11. J.-B. Masson, M.-P. Sauviat, J.-L. Martin and G. Gallot, "Ionic contrast terahertz near field imaging of axonal water fluxes," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 4808–4812 (2006).
12. M. Born, E. Wolf, "Principles of Optics", (Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K.), 6th Ed. (1997)
13. H.A. Bethe, "Theory of diffraction by small holes," *Phys. Rev.* **66**, 163–182 (1944).
14. R.E. English, Jr., and N. George, "Diffraction from a small square aperture: approximate aperture fields," *J. Opt. Soc. Am. A* **5**, No. 2 (1988).
15. P. Y. Han, G. C. Cho, and X.-C. Zhang, "Time-domain transillumination of biological tissues with terahertz pulses," *Opt. Lett.* **25**, no 4 3009 (2004).
16. M.C. Beard, G.M. Turner and C.A. Schmuttenmaer, "Progress towards two-dimensional biomedical imaging with THz spectroscopy," *Phys. Med. Biol.* **47**, 3841–3846 (2002).
17. A.J. Fitzgerald, E. Berry, N.N. Zinov'ev, S. Homer-vanniasinkam, R.E. Miles, J.M. Chamberlain and M.A. Smith, "Catalogue Of Human Tissue Optical Properties At Terahertz Frequencies," *J. Biol. Phys* **29**, 123–128 (2003).

18. H.T. Chen, R. K., and G. C. Cho , "Terahertz imaging with nanometer resolution," Appl. Phys. Lett. **83**, 3009 (2003).
  19. K. Wang, A. Barkan, and D. M. Mittleman , "Propagation effects in apertureless near-field optical antennas," Appl. Phys. Lett. **84**, 2 (2003).
  20. R.S. Decca, H.D. Drew and K.L. Empson, "Investigation of the electric-field distribution at the subwavelength aperture of a near-field scanning optical microscope," Appl. Phys. Lett. **70**, (15) (1997).
- 

## 1. Introduction

Near field optics offers the possibility of imaging with a precision much better than the wavelength of the electromagnetic radiation employed [1, 2, 3, 4, 5, 6]. In any near field optical system an electromagnetic wave is constrained to propagate in a volume of characteristic size smaller than the wavelength. Therefore, light emerging from this spatially constraining system has a higher spatial frequency, and then is able to image with subwavelength precision.

Mutual effect of induced electromagnetic fields on both probe and sample is at the core of near field interaction. In Far Field (FF) imaging, the sample does not modify the field around the probe. On the contrary, in near field imaging the sample alters the electromagnetic limit conditions at the probe and thus transforms the field.

These interactions are the source of the complexity of near field analysis and a reason why finite element programming [7, 8, 9, 10] are used in near field interaction. Complete analysis of experimental work is often impossible and near field imaging would profit from a simpler method of analyze. Then, is there a domain where spatial enhancement of near field imaging can be used, and where the sample does not strongly modify the field in the probe?

In this paper we demonstrate the existence of two specific processes in near field imaging, namely True Near Field (TNF) imaging and Contrast Near Field (CNF) imaging. In TNF imaging, probe and sample have strong and complex interactions, thus analyzing the electromagnetic field propagation can only be done by three dimensional (3D) finite element programming. In CNF imaging, the effect of the sample on the probe allows approximations on the field propagation around the probe and then offers a much simpler and faster way to model the signal. Analyzing a CNF experiment is then performed in two steps: first, a full 3D finite element programming is locally performed to evaluate the electric field in the probe alone, and second, this field is propagated by Green functions through the sample. We performed extensive finite element programming in order to characterize both processes. Finally, we show an application in terahertz near field imaging of axons.

## 2. Simulation model and results

Near field interactions have been studied with two different methods of simulation. First, we carried out the direct resolution of Maxwell's equations through full 3D *ab initio* finite element (FEM) analysis method of the electric field propagation through the aperture and the sample [8, 9, 11, 10]. This method provides quantitative information on the field distribution in the probe and all over the sample. Our work is focused on near field imaging with aperture, but results can be extended to apertureless near field imaging, *i.e.* imaging with a tip. Large sets of parameters have been tested to fully characterize the aperture properties: values from 50 to  $10^6$  for both real and imaginary part of the relative permittivity, or values from  $10^2$  to  $10^{10}$  for the conductivity have been tested (values are given in Gaussian units). Results differ from negligible quantities in all simulations. All these values cover characteristics of metals and dielectrics from the visible to the terahertz range.

Second, the resolution of Maxwell's equation was carried out with 3D FEM on the aperture alone. Then, the electric field in the aperture is extracted. Classic scalar Green functions [12] are used to propagate the electric field from the aperture through the sample to the detection



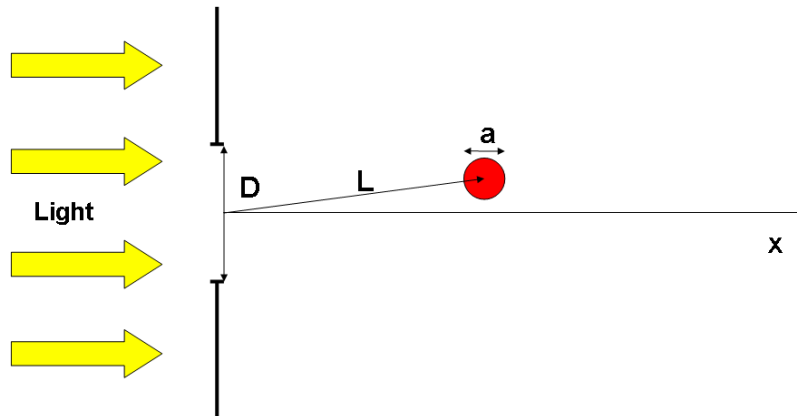


Fig. 1. Principle of near field imaging with aperture

domain. The propagation is calculated by the convolution between the Green functions and the field in the hole at the point where the field is detected. This method is called the Green Function Propagation (GFP) method.

Trying to find out general considerations was a major purpose of this study. Numerous simulations have been performed with large sets of shape and size for both apertures and samples. Only simulations with circular aperture of diameter  $D$  and spherical samples of diameter  $a$  are detailed here (Figure 1). Results of the model confirmed that, for most sample with a compact topology (no holes in the sample) and for most aperture, the relevant variables are the characteristic size of the sample and the aperture.

As our interest is focused on near field interactions, special care was provided to the mesh. In each simulations typical mesh size was  $\lambda/700$  inside the aperture and near the sample, and was  $\lambda/5$  in the rest of the box of simulation, with  $\lambda$  being the wavelength of the electromagnetic field in vacuum. Another very important point is that theoretical calculations [13, 14] show that in subwavelength aperture, the electric field diverges near the edges. When the propagation of electromagnetic field is studied with FEM programming, the volume studied is meshed, and then the field is propagated from one piece of the mesh to another. The mesh is generated with a specific mean value of point to point distance. This mean distance corresponds to the electromagnetic field spatial precision. Inside the subwavelength aperture, the maximum electric field value is correlated to the mesh size, so the mesh has to be locked inside the hole in order to compare different simulations. Furthermore, when the sample is put close to the aperture, the mesh geometry might be modified, generating artificial strong field domains, with consequences on the simulation validity. All meshes used in all simulations have been specifically prepared to keep the mean point to point distance constant inside and near the aperture, and locked to avoid strong wrapping when samples are put near the aperture. Finally, a program was designed to detect anomalous strong field domain and reject these simulations.

Two parameters are defined to understand near field interactions. The first one is linked to the physical detection, and is the difference  $\Delta$  between the electric fields calculated by 3D FEM

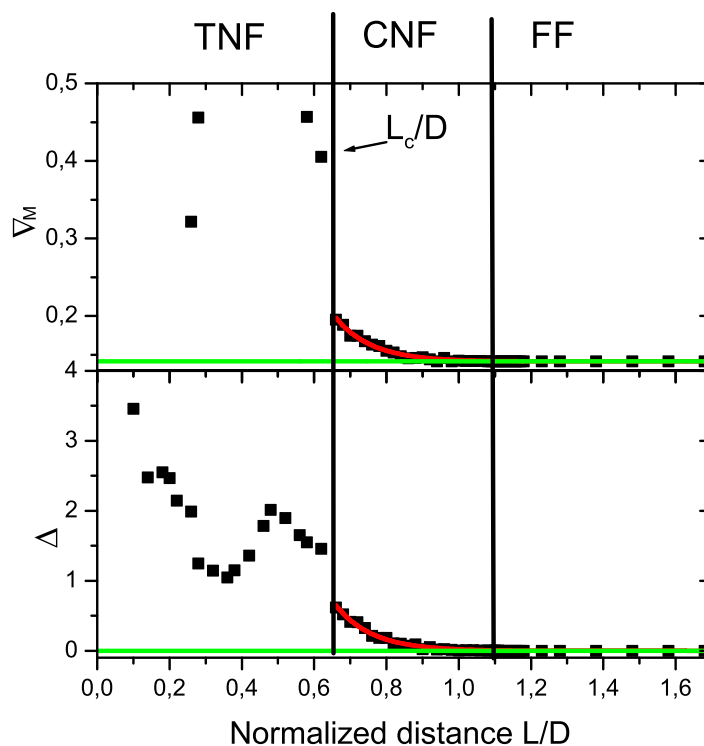


Fig. 2. Example for a spherical sample of normalized size 0.2 of the evolution of  $\nabla_M$  and  $\Delta$  with normalized distance  $L/D$ . Three domains have been pointed out: the true near field domain (TNF), the contrast near field domain (CNF), and the far field domain (FF). The red lines are the exponential fits in the CNF domain. The green lines are FF references.

method and GFP at the detection point in the far field domain. The second one is linked to the very structure of near field interaction and is the maximal electric field gradient  $\nabla_M$  inside the aperture. An example of the evolution of  $\Delta$  and  $\nabla_M$  with respect to the distance  $L$  between the sample and the aperture is shown in Figure 2. For purpose of generality, most distances are normalized to the aperture size.

Three domains are observable: a domain where  $\Delta$  is almost null, and where the difference between  $\nabla_M$  and  $\nabla_M^0$ , the value of  $\nabla_M$  with no sample, is negligible. This domain corresponds to the FF domain. As the distance decreases,  $\Delta$  and  $\nabla_M$  differ from their FF values. First, the evolution of both parameters is monotone, the limit of this domain is the distance  $L_c$  (where  $\Delta$  can no longer be approximated 0 or  $\nabla_M$  to  $\nabla_M^0$ ). The behavior of  $\Delta$  and  $\nabla_M$  is no longer monotone when  $L < L_c$  and corresponds to a third domain appears as the distance keeps on decreasing, characterized by a more complex behavior. In all simulations similar behavior for both parameters have been encountered. To further investigate the limit and the behavior of the electric field in the two near field domains, we studied the evolution of  $L_c$  versus  $a/D$  and  $D/\lambda$  (Figure 3), and the evolution of  $\nabla_M$  and  $\Delta$  versus  $D/\lambda$ ,  $a/D$ , and the normalized shifted distance  $d = (L - L_c)/D$  (Figure 4). It should be noticed that  $L_c$  and  $\nabla_M$  are independent of

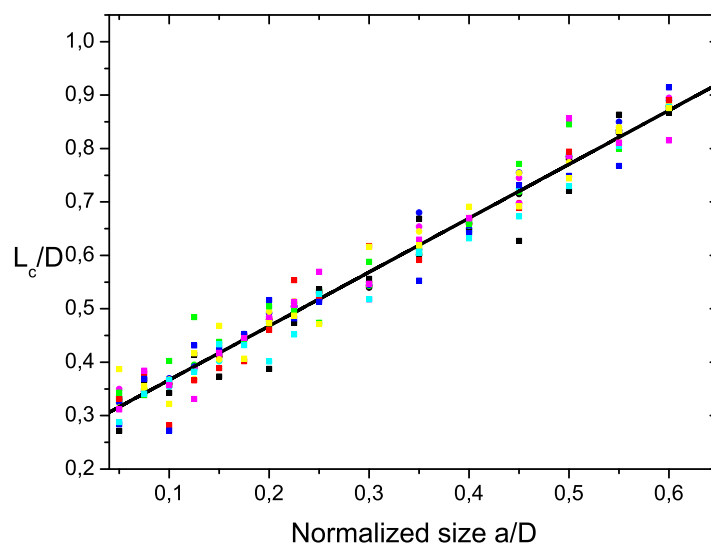


Fig. 3. Evolution of the normalized distance  $L_c/D$  versus  $a/D$ . The point color is related to  $D/\lambda$ : black for 1/3, red for 1/4, green for 1/5, blue for 1/6, cyan for 1/7, magenta for 1/8, yellow for 1/9. The black line is the linear fit of the simulations. The shape of points is related to the simulation, circles for  $\nabla_M$  and squares for  $\Delta$

the aperture and sample size in all simulations.  $L_c$  has exactly the same behavior whether it is extracted from  $\Delta$  or  $\nabla_M$  data, and is a linear function of the normalized size of the sample. When  $L > L_c$  the evolution of both  $\nabla_M$  and  $\Delta$  is a decreasing exponential function of  $d$ , with a characteristic distance  $D/10$ .

Results on  $L_c$  and  $\nabla_M$  confirm the existence of two domains in near field interactions. From the limit of FF domain to the distance  $L_c$ , it is the CNF interaction domain. In this part of space,  $\nabla_M$  can be approximated to  $\nabla_M^o$  and  $\Delta$  to 0. In a more physical matter, in this domain the sample "feels" the near field effect of the aperture, but modifies only slightly the electric field in the aperture. So there can be a separation between the field evaluation in the hole and the field propagation through the sample.

Inside the domain limited by a sphere centered on the aperture and of radius  $L_c$ , differences between 3D FEM analysis and GFP analysis become strong and very dependent on the size and the shape of both the aperture and the sample. This domain is the TNF interaction domain. Modeling in TNF domain can only be made with FEM analysis. The interactions between the sample and the aperture are strong and complex, the sample modifies the electric field inside the aperture, changing both its intensity and shape, avoiding a GFP analysis of the experiment. One may notice that this great sensitivity is the reason why  $\nabla_M$  can not describe the TNF interaction behavior.

One conclusion is that  $\Delta$  and  $\nabla_M$  have a correlated behavior, a criterion used on one of them can be applied to the other. But  $\Delta$  is far more sensitive to geometric variations, and is also sensitive to the nature of the near field experiment. It was found that  $\nabla_M$  is more stable to geometric variations, simpler to analyze, and equally linked to near field interaction.

Finally as neither  $\Delta$  nor  $\nabla_M$  can describe near field interaction in the TNF domain, a param-

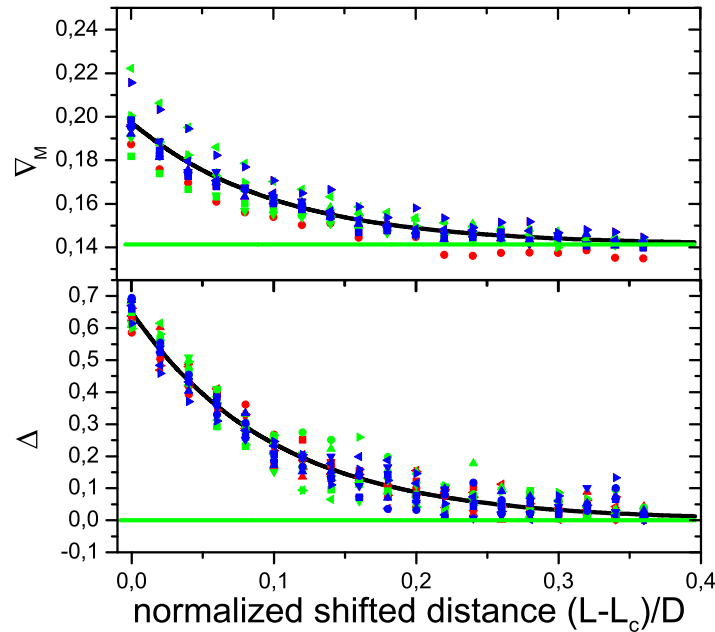


Fig. 4. Evolution of  $\nabla_M$  and  $\Delta$  with the normalized displacement distance  $(L - L_c)/D$ , for 3 aperture sizes:  $\lambda/3$  (red),  $\lambda/6$  (green),  $\lambda/10$  (blue). For each aperture size 6 values of  $a/D$  are calculated: 0.05 (circle), 0.1 (square), 0.15 (up triangle), 0.2 (down triangle), 0.4 (left triangle), 0.5 (right triangle). The black line is the exponential fit of the simulation data and the green line is the FF value. On both fits the characteristic distance of the exponential is  $D/10$ .

eter related to the spatial electric field topology should be used. The number of extrema of the electric field  $N$  was one of the parameters considered. When the sample is in the CNF or FF domains  $N$  is equal to 1 (Figure 5). In the TNF domain, all samples modify strongly the electric field in the aperture and  $N > 1$ . This parameter quantitatively describes the effect of the sample on the field in the hole, more precisely it characterizes the topology changes of the electric field.

The limit between the  $N = 1$  domain and the  $N > 1$  is also found to be very close to  $L_c$ , confirming that  $L_c$  is the frontier between TNF and CNF domain. It illustrates the link between electric field topology in the aperture ( $N$ ), electric field characteristic changes in the aperture ( $\nabla_M$ ) and differences between 3D FEM and GFP programming ( $\Delta$ ).

### 3. Applications

The concepts previously described have been applied to terahertz imaging [11, 15, 16, 17], and more precisely terahertz axons imaging. It has been recently proved that the high sensitivity of terahertz radiation to ion concentration could be used in axon imaging [11]. Most Axons are small compared to terahertz wavelength. Therefore, near field optics is necessary. However, the reduction of the aperture size is limited by the available experimental signal to noise ratio, and by the strong absorption by water ( $100 \mu\text{m}$  of water absorbs approximately 50% of the signal at 1 THz). Therefore, a compromise has to be found between precision and detection.

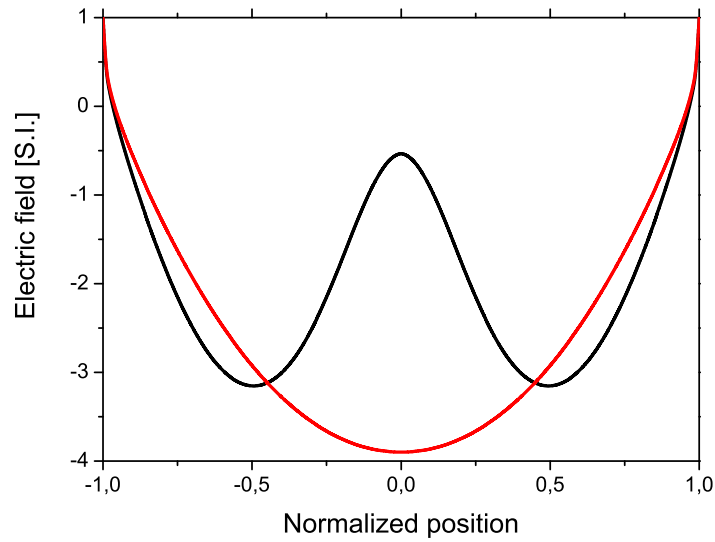


Fig. 5. Evolution of the normalized electric field (along incident polarization) in the hole with the normalized position, when the sample is in the TNF domain (black), and in the CNF domain (red). On both curves the sample is centered aperture.

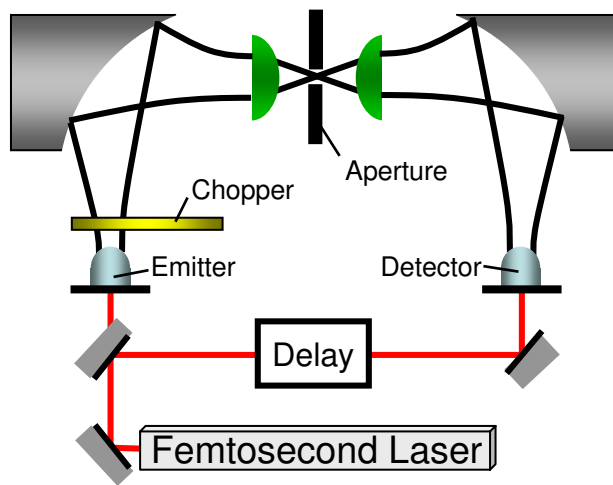


Fig. 6. Experimental setup. Terahertz generation and detection with photoconductive antenna. A femtosecond pulse generates terahertz pulses, which propagate through the sub-wavelength aperture and sample, and which are detected in amplitude by the detector antenna.

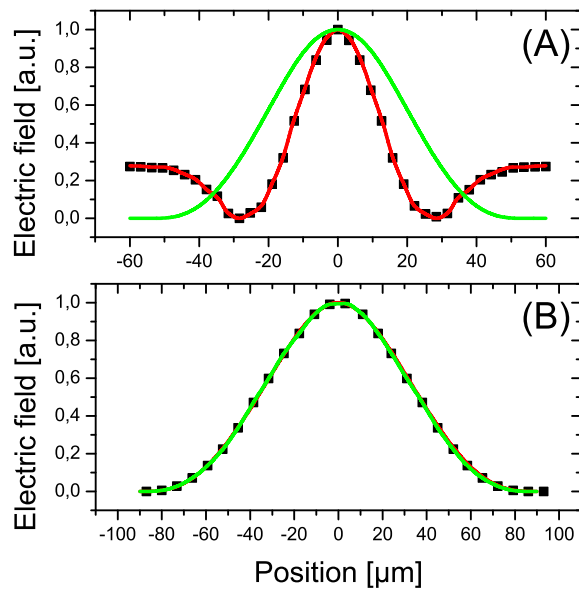


Fig. 7. Evolution of the normalized transmitted electric field versus the axon position in TNF conditions (A,  $L=80\mu\text{m}$ ) and with CNF conditions (B,  $L=140\mu\text{m}$ ). The black dots are the experimental data, the red line is the full 3D FEM simulation fit, and the green line is the GFP fit.

We have performed experiments with broadband linearly polarized subpicosecond single cycle pulses of terahertz radiation, generated and coherently detected by illuminating photoconductive antennas with two synchronized femtosecond laser pulses (Fig. 6). Near-field microscopy with aperture was performed by focusing the terahertz radiation with a hyper-hemispherical Teflon lens onto a subwavelength-diameter hole ( $100\mu\text{m}$ ). A neural tube of earth worm plunged in a Ringer solution [11] was put behind the aperture, then the transmitted terahertz radiation was focused by another hemispherical lens to the photoconductive detector. The imaging process consisted on moving the neural tube in front of the aperture, and measuring the transmitted electric field for each position. In a first experiment the neural tube is put closely after the aperture ( $80\mu\text{m}$ ), in a second one the neural tube is put  $140\mu\text{m}$  after it. Results are on Figure ??A and 7B. All results were analyzed using the two methods described before: we performed a full 3D FEM analysis of the complete near field setup as well as GFP analysis. Both fits are shown on Figure 7. The difference between TNF and CNF is easily noticeable in the first experiment, only the complete simulation with finite element can fit the data. So a complete set of simulations is required to find physical quantities, such as the axon diameter. On the contrary the second experiment is well fitted by both methods. The fits are almost identical. However, the second fitting method is much simpler. With this method only one simple simulation followed by Green function propagation and geometrical optimization is necessary to extract physical quantities. The results are consistent with the theoretical value of  $L_c$ , found to be  $105\mu\text{m}$ . Therefore, it is more useful here to keep the distance between the sample and the probe in the CNF domain in order to get a very simple signal to analyze. Using this method we have been able to measure the axon size of the sample at  $78 \pm 1\mu\text{m}$ . Furthermore, we measured

axon diameter variations, due to axonal water swelling, with a relative precision of 0.001 using the contrast near field imaging and the analysis cited before [11].

#### **4. Conclusion**

In this paper we have showed that in near field interaction, two domains can be separated: true near field domain and contrast near field domain. In the true near field domain, both probe and sample strongly interact, and the field in the probe is altered by the sample. In contrast near field domain, near field interactions still enhance spatial resolution, but the sample has a small effect on the field in the aperture. Analyzing an experiment in true near field conditions implies a full 3D FEM simulation. On the contrary, analyzing an experiment in contrast near field conditions, implies only a full 3D FEM simulation of the probe, followed by simple Green function propagation of the field on the probe over the model of the sample. It is a much simpler and a much faster way to analyze the data and it offers the possibility of extracting precise physical quantities from near field experiments.

# True near field versus contrast near field imaging. II. imaging with a probe

Jean-Baptiste Masson and Guilhem Gallot

Laboratoire d'Optique et Biosciences, Ecole Polytechnique, CNRS, INSERM,  
91128 Palaiseau, France

[jean-baptiste.masson@polytechnique.edu](mailto:jean-baptiste.masson@polytechnique.edu)

[guilhem.gallot@polytechnique.edu](mailto:guilhem.gallot@polytechnique.edu)

**Abstract:** In this letter, we extend the results previously found in near field imaging with aperture [Opt. Express 14, 11566 (2006)], where we demonstrated that interaction between light and sample can be divided into two main areas: the true near field and the contrast near field domain. Here, we show that in near field with a probe, the same division of space exists, and thus we show that a much simpler way to model these experiments can be given.

© 2007 Optical Society of America

OCIS codes: (110.0180) Microscopy; (260.0260) Diffraction Theory

---

## References and links

1. J.-B. masson and G. Gallot, "True near field versus contrast near field imaging," Opt. Express **14**, 11566-11574 (2006).
2. A. Lewis, H. Taha, A. Strinkovski, A. Manevitch, A. Khachatourians, R. Dekhter, and E. Ammann, "Near-field optics: from subwavelength illumination to nanometric shadowing," Nature biotechnol. **21**, 1378-1386 (2003).
3. Y. Lu, T. Wei, F. Duewer, Y. Lu, N.-B. Ming, P. G. Schultz, and X.-D. Xiang, "Nondestructive imaging of dielectric-constant profiles and ferroelectric domains with a scanning-tip microwave near-field microscope," Science **276**, 2004-2006 (1997).
4. D. Molenda, G. C. d. Frans, U. C. Fischer, N. Rau, and A. Naber, "High-resolution mapping of the optical near-field components at a triangular nano-aperture," Opt. Express **13**, 10688-10696 (2005).
5. J. P. Fillard, *Near Field Optics and Nanoscopy*, (World Scientific, Singapore, 1996).
6. *Comsol*. Burlington, MA, USA, Version 3.3.
7. M. A. Bhatti, *Fundamental Finite Element Analysis and Applications: With Mathematica and Matlab Computations*, (J. Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2005).
8. J.-B. Masson, M.-P. Sauviat, J.-L. Martin, and G. Gallot, "Ionic contrast terahertz near field imaging of axonal water fluxes," Proc. Nat. Acad. Sci. USA **103**, 4808-4812 (2006).
9. J.-B. masson, M.-P. Sauviat, and G. Gallot, "Ionic contrast terahertz time resolved imaging of frog auricular heart muscle electrical activity," Appl. Phys. Lett. **89**, 153904 (2006).
10. M. Born and E. Wolf, *Principles of optics 6th Edition*. (Cambridge University Press, Cambridge, 1997).
11. A. Bouhelier, M. Beversluis, A. Hartschuh, and L. Novotny, "Near-field second-harmonic generation induced by local field enhancement," Phys. Rev. Lett. **90**, 013903 (2003).
12. H. Cory, A. C. Boccara, J. C. Rivoal, and A. Lahrech, "Electric field intensity variation in the vicinity of a perfectly conducting conical probe: Application to near-field microscopy," Microwave Opt. Technol. Lett. **18**, 120-124 (1998).

---

## 1. Introduction

Near field optics has the very interesting possibility of breaking through the limit of diffraction, and offers the ability to image with a precision much better than the wavelength of the electromagnetic radiation used [2, 3, 4, 5]. A sample smaller than the incident electromagnetic



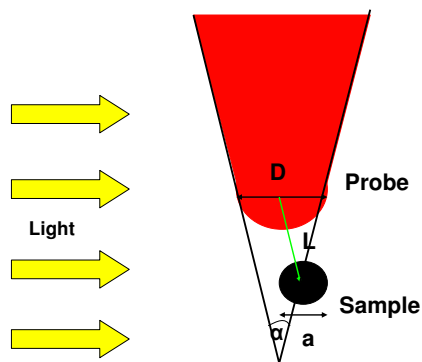


Fig. 1. Principle of apertureless near field microscopy. The probe has a cone angle  $\alpha$ . The sample is a sphere of diameter  $a$ , at a distance  $L$  from the center of the probe apex of diameter  $D$ .

wavelength re-emits light with a spatial frequency directly related to its size. However, this information is absent from the wave propagating in the far field, and near field measurements are required to image with subwavelength precision. Typically, an aperture with sub-wavelength diameter is positioned and moved very close to the sample under study. We recently demonstrated that the treatment of this interaction could be strongly simplified. We showed the existence of two specific domains in near field imaging: True Near Field (TNF) and Contrast Near Field (CNF) domains [1]. In TNF domain, mutual interaction between the object and the aperture leads to very complex analysis. On the contrary, in CNF domain, near field interactions still allow sub-wavelength measurements, but the sample weakly perturbs the aperture field distribution. Therefore, simple Green function propagation treatment is allowed.

However, further improvements are mainly limited by the transmission through the aperture, which decreases as the third power of the diameter. An alternative widely used is apertureless near field microscopy, where the aperture is replaced by a conic probe. Here, the probe tip is put close to the sample in order to locally modify the electric constant. Once again, mutual interactions between probe and sample are the source of the complexity of the near field analysis and a reason why finite element programming [6, 7] is almost always used to precisely analyze the results. The question of defining a CNF domain for this system is however more complex, since the conic probe breaks the symmetry of the system, and since the whole probe diffracts the light over a large distance. Here, we demonstrate again the existence of a division of near field interaction space between TNF and CNF domains. We show that analysis in CNF is possible in apertureless near field imaging, and can be divided in two steps: first, a full 3D finite element analysis of the probe, and second, a simple field propagation using Green functions.

## 2. Simulation model and results

The system is depicted in Fig. 1 and is studied using two different procedures. The first is the complete solving of the full system, sample and probe, by full 3D *ab initio* finite element method programming [7, 8, 9]. It is the direct local resolution of the Maxwell's equations. This procedure can be found in Ref. [1]. The second procedure requires several steps. First, Maxwell's equations are solved in the system containing the probe alone, with 3D finite element method. Then, the electric field around the probe is extracted from the calculation and Green function propagation method is employed [1]. Classic scalar Green functions [10] are used to transfer the electric field from both the source and the probe around the sample to the far

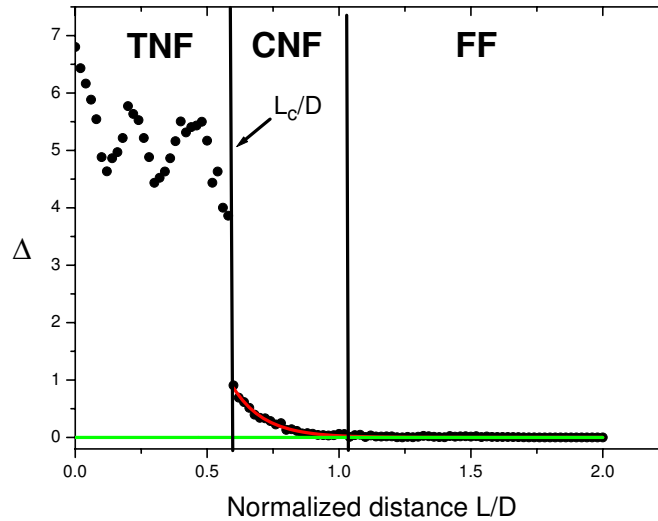


Fig. 2. Example, for a spherical sample of normalized size 0.22, of the evolution of  $\Delta$  with normalized distance  $L/D$ . Three domains have been pointed out: the TNF, CNF and far field domains. The red line is the exponential fit in the CNF domain. The green line is far field reference.

field detection domain. The propagated field is the convolution between the Green functions, describing the sample and the propagation media, and the calculated field around the probe. The convolution is performed at the point where the field is detected.

Most characteristics of the calculation are similar to the one used for near field imaging with aperture [1]. In near field with aperture, a great care was paid to the mesh inside the aperture. This issue is even more difficult here. The main difference between the two calculations is the locking of the mesh near the probe. Between different simulations, noticeable changes in the mesh structure near the probe can be noticed. Nevertheless, these changes do not lead to detectable modifications of electric field values near the probe, and so do not alter the results of the calculations. The size of the simulation boxes in the probe calculation is chosen to be much larger than the one used in the aperture calculation, in order to take into account the length of the probe, and to avoid the proximity between the probe and the limits of the simulation box. Thus, the simulation boxes were separated to the probe and the sample by at least  $3\lambda$ .

In analyzing near field imaging with aperture, two parameters were defined to characterize the interactions between the sample and the aperture. The first one was related to direct experimental research, *i.e.* energy detection.  $\Delta$  was the difference between the energy calculated by 3D finite element method and Green function propagation at the detection point in the far field domain. The second one was linked to the very structure of near field interaction and was the maximal electric field gradient  $\nabla_M$  between the probe and the sample. The latter was very useful, since it was less sensitive to geometry variation of both the aperture and the sample. Here, as the geometric effect of the probe is irrelevant,  $\nabla_M$  is much less clearly defined in apertureless near field experiments. Therefore, the  $\Delta$  parameter is sufficient to describe most of experiments and is only discussed here. On Fig. 2, we show an example of the evolution of  $\Delta$  with the normalized distance between the sample and the probe. Very interestingly, the behavior of  $\Delta$  in apertureless near field interaction is very similar to the one with aperture. It is not an obvious result, since in near field with aperture [1], the light that interacts with the sample has only been

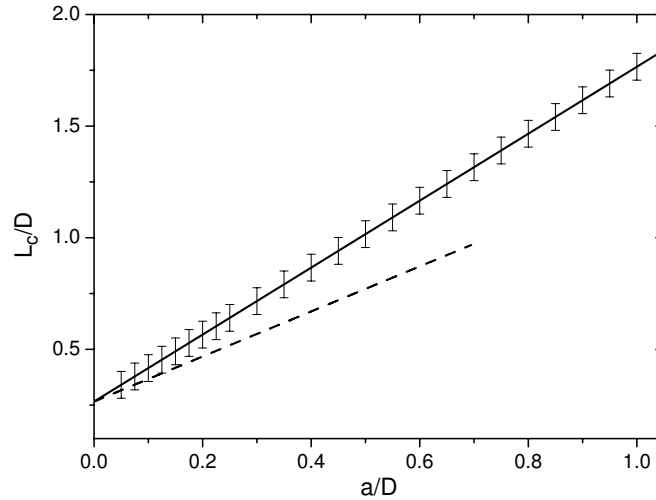


Fig. 3. Evolution of the normalized distance  $L_c/D$  versus  $a/D$ . The solid line corresponds to the linear fit of the simulations, and the error bars refer to the dispersion of the results for  $D/\lambda$  from  $1/3$  to  $1/9$ . The dotted line refers to near field with aperture.

scattered by the aperture. In apertureless near field, the light interacts at the same time with both the probe and the sample.

Three domains are observable. First, a domain where  $\Delta$  is almost null. This domain corresponds to the far field domain. As the distance decreases,  $\Delta$  differs from its far field value. Its evolution is, at first, monotone. The limit of this domain is the distance  $L_c$  (where  $\Delta$  can no longer be approximated 0). The behavior of  $\Delta$  is no longer monotone when  $L < L_c$  and corresponds to a third domain, characterized by a more complex behavior. The apparent discontinuity between the two domains is clearly due to the numerical simulations and is not physical. In all simulations similar behaviors for both parameters have been encountered. The limit of the two near field domains are investigated, so the evolution of  $L_c$  versus  $a/D$  and  $D/\lambda$  (Fig. 3) and the evolution of  $\Delta$  versus the normalized shifted distance  $d = (L - L_c)/D$  (Fig. 4) are studied. First, it should be noticed that  $L_c$  and  $\Delta$  are independent of the probe tip normalized size. From Fig. 3,  $L_c$  evolves as a linear function of the normalized size of the sample. We may notice that the slope of the linear fit is larger than the one found with near field in aperture (1.5 for probe and 1 for aperture). It characterizes the fact that the TNF domain is wider in apertureless near field than in near field with aperture. The main difference between the probe and the aperture is the potential influence of the cone of the probe. Several studies [11, 12] investigated the influence of the cone and showed that the cone acts as an antenna concentrating the electromagnetic field on the tip. Another parameter has then been investigated: the apex angle  $\alpha$  of the probe (see Fig. 1). Results are shown in Fig. 5. There seems to be no real influence of the angle on the limit between the CNF and TNF domain. However, this does not mean that the angle has no influence at all on the near field interactions. This angle plays a role on the intensity of the resulting field at the tip [12], as well as on the contrast of the imaging [5]. The geometry of the probe has an impact on the contrast of the higher order diffracted electric field, *i.e.* higher order of interaction.

Furthermore, in the CNF domain ( $L > L_c$ ),  $\Delta$  can be approximate as  $\Delta \propto e^{-d/D/8}$  (Fig. 4), a decreasing exponential function of  $d$ , with a characteristic distance  $D/8$ . In the CNF domain of imaging with aperture, the characteristic decreasing distance was found to be only  $D/10$ .

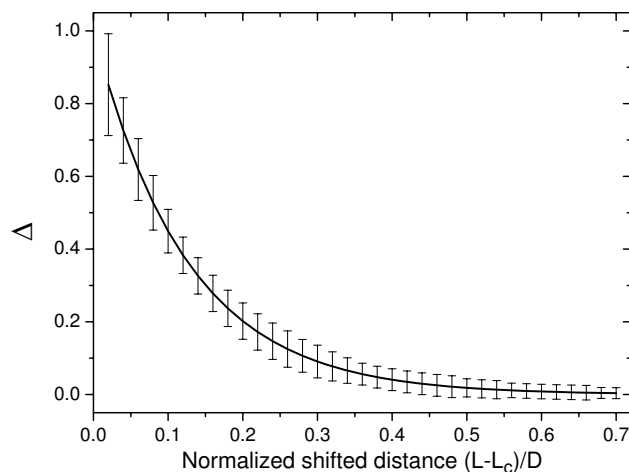


Fig. 4. Exponential fit (solid line) of the overall evolution  $\Delta$  with the normalized displacement distance  $(L - L_c)/D$ , for 3 tip sizes:  $\lambda/2$ ,  $\lambda/5$  and  $\lambda/10$ . The error bars show the dispersion of the results for each tip size and for 8 values of  $a/D$  from 0.05 to 0.75. The characteristic distance of the exponential is  $D/8$ .

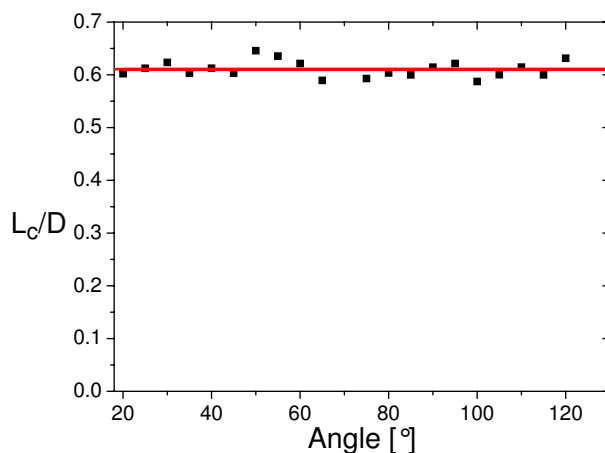


Fig. 5. Evolution of the normalized distance  $L_c/D$  with the main angle of the probe. This example is taken with  $a/D=0.22$ . Black points are the results and the red line is the mean value found in the linear model of the evolution of  $L_c/D$  with  $a/D$ .

This is the main difference between the two systems. In near field imaging with aperture, light sequentially interacts with the aperture and then with the sample. Here, light almost simultaneously interacts with both the probe and the sample. Mutual interaction is therefore stronger, due to higher order interactions between the radiated dipoles of the probe in the near field domain. Furthermore, here again the influence of the cone angle of the probe is negligible and there is no modification of the characteristic decreasing distance with  $\alpha$ . Finally, it should be noticed that the behavior of  $\Delta$  is independent of the normalized size of the sample.

Results on the evolution of  $\Delta$  and  $L_c$  confirm the existence, in apertureless near imaging, as

well as with aperture, of an interesting spatial domain, the CNF domain, in which the spatial resolution of near field still exists, and in which simple calculation may be achieved. From the limit of far field domain to the distance  $L_c$ , is the CNF interaction domain. There,  $\Delta$  may be approximated to 0. In this domain the sample "feels" the near field effect of the probe, but modifies only slightly the electric field around it. So a separate evaluation of the fields around the probe and around the sample can be performed. When the probe is closer to the sample, calculations become much more complex and require a full 3D simulation. It should be noted that, on the contrary to the theory developed for near field with aperture, a good parameter describing, in a very general way, the electric field inside the TNF domain is lacking. Nevertheless, the study performed on aperture near field tends to indicate that a suitable parameter should describe some topology changes in the electric field. Any attempt to describe pure intensity, would encounter major difficulties because of the very high sensitivity of the field in this domain.

Finally we may comment the difference between near field with aperture, and apertureless near field. Results show first, that evolution of  $L_c/D$  for the probe exhibits a higher slope than for the aperture and second, that the characteristic distance of the decreasing exponential describing the evolution of  $\Delta$  is inferior for the probe than for the aperture. Thus, in apertureless near field, the TNF domain and the CNF domain are wider than in near field with aperture, and in the CNF domain the decrease of  $\Delta$  is slower in apertureless near field than in near field with aperture. These results may be explained with the simplest model usually used to describe near field interaction: the dipole model [5]. In Near field with aperture, the light that interacts with the aperture, generates an induced dipole. This dipole emits an electromagnetic field which induces a dipole on the sample. TNF is then located in the domain where the interaction of the induced dipole of the sample interacts with the induced dipole of the aperture. In apertureless near field, the same light both induces a dipole on the probe and on the sample. Thus, we may understand the differences between the two kinds of near field, to be a difference of induced dipole order of interaction.

During the first phases of near field imaging development, it was easier to design probes than apertures, so apertureless near field became popular. Nevertheless, today, both kinds of near field are more easily handled with new technologies of probe and aperture design. From the results of this study, we may prefer near field with aperture, because it leads to an easier access to CNF, and provides an easier analysis of near field experiment, especially when the sample is much smaller than the aperture.

### 3. Conclusion

In this paper, we have extended the work performed on near field with aperture to apertureless near field imaging. Results demonstrated that in apertureless near field interaction, two domains can also be considered: the true near field domain and the contrast near field domain. In the true near field domain, interactions between sample and probe are strong and complex, and so the electric field in the domain between these is profoundly modified. In contrast near field domain, the probe still interacts with the sample, but the electric field near the probe is not strongly perturbed by the sample. In this domain  $\Delta$  is monotonous and exhibit a decreasing exponential behavior of characteristic distance  $D/8$ . The limit  $L_c$  between the two domains is linearly dependent of the size of the sample.

In TNF experimental conditions analyzing results implies a complete resolution of Maxwell's equation with full 3D finite element method simulations. In CNF experimental conditions,  $\Delta$  may be approximated to 0, and the analysis is divided in two steps, a 3D finite element method analysis and Green function propagation. This analysis method is much simpler and faster, and the small loss of spatial precision is compensated by the precise physical information gathered

from it.

## Ionic contrast terahertz time resolved imaging of frog auricular heart muscle electrical activity

Jean-Baptiste Masson, Martin-Pierre Sauviat, and Guilhem Gallot<sup>a)</sup>

Laboratoire d'Optique et Biosciences, École Polytechnique, CNRS, INSERM, 91128 Palaiseau, France

(Received 3 July 2006; accepted 30 August 2006; published online 12 October 2006)

The authors demonstrate the direct, noninvasive and time resolved imaging of functional frog auricular fibers by ionic contrast terahertz (ICT) near field microscopy. This technique provides quantitative, time-dependent measurement of ionic flow during auricular muscle electrical activity, and opens the way of direct noninvasive imaging of cardiac activity under stimulation. ICT microscopy technique was associated with full three-dimensional simulation enabling to measure precisely the fiber sizes. This technique coupled to waveguide technology should provide the grounds to development of advanced *in vivo* ion flux measurement in mammalian hearts, allowing the prediction of heart attack from change in  $K^+$  fluxes. © 2006 American Institute of Physics. [DOI: 10.1063/1.2360931]

Recent development in terahertz technology and in terahertz imaging offer new possibilities in biology. Among the involved advantages and by contrast to x-ray imaging, the sample does not suffer from terahertz imaging, thanks to the low associated photon energy. We recently demonstrated ionic contrast terahertz (ICT) for neuron imaging, ion flux detection, and axonal water swelling using very sensitive absorption of terahertz radiation to biological ion concentration.<sup>1</sup> Terahertz imaging has also been used for tissue investigations with diagnosis perspectives in dermatology and odontology.<sup>2-6</sup> Finally recent developments in terahertz guiding through waveguides and metal wires offer the perspective of probing biological sample *in situ*.<sup>7</sup>

In this letter, we demonstrate the application of ICT near field imaging on living frog heart muscle dynamic electrical activity. We have recorded ionic fluxes of spontaneously beating, nonstimulated, and unstained auricular muscle with time resolution of 10 ms using the contrast in terahertz absorption of the relevant biological ions. We find that the main ionic activity occurs during the first  $390 \pm 10$  ms with a  $1.49 \pm 0.01$  s beating period. Extra systolic electrical response has also been observed.

In living cells and more specifically in cardiac muscles the most relevant ions are  $Na^+$ ,  $K^+$ , and  $Ca^{++}$ . Time domain spectroscopy allows us to record ionic terahertz absorption profiles of  $NaCl$ ,  $CaCl_2$ , and  $KCl$  solutions.<sup>1</sup> Broadband linearly polarized subpicosecond single cycle pulses of terahertz radiation are generated and coherently detected by illuminating photoconductive antennas with two synchronized femtosecond laser pulses. The samples are double de-ionized water with precise control of added quantities of  $NaCl$ ,  $CaCl_2$ , and  $KCl$ . The 100- $\mu m$ -thick liquid sample is contained in a polyethylene cell with 5-mm-thick walls in order to avoid Fabry-Pérot effects during scan. The spectrum exhibits a progressive increase of absorption with respect to the frequency. The absorption results from the modification of the dielectric properties of the water solvent by the surrounding ions. The sequence of typical molar absorption ( $mM^{-1} cm^{-1}$ ) at 1 THz is  $Ca^{++}(4) \geq K^+(3.5) > Na^+(1)$ .<sup>1</sup>

In order to measure the ions variations we have performed near field imaging with aperture.<sup>1</sup> The terahertz radiation is focused by a hyperhemispherical Teflon lens onto a subwavelength-diameter hole, lying on a 10- $\mu m$ -thick aluminum screen (see Fig. 1). The hole breaks the incident terahertz wave and reemits a polarized terahertz pulse with much higher spatial frequency. Furthermore, the electric field has a highly anisotropic spatial profile which is the cause of the higher spatial frequency. The size of the hole results from a compromise between spatial resolution required for the sample, radiation transmission, and signal-to-noise ratio. The frog auricular muscle is positioned closely behind the subwavelength hole and the transmitted terahertz radiation is focused by another hemispherical lens onto the photoconductive detector. During imaging, the delay between the two femtosecond pulses remains constant, and the amplitude of the transmitted beam is recorded.

The biological sample is prepared immediately before experimenting. The heart is removed from the frog chest, and

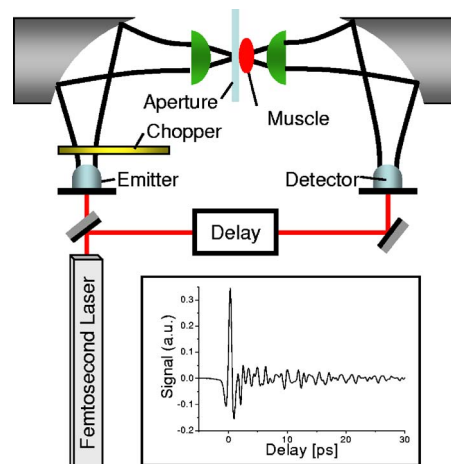


FIG. 1. (Color online) Setup for near-field terahertz microscopy. A femtosecond laser generates terahertz pulses, which propagate through free space. A chopper and lock-in device allow one to record the amplitude of the electric field. Terahertz radiation is focused onto a subwavelength hole by a hyperhemispherical Teflon lens. The frog muscle sample is put behind the hole, and the transmitted terahertz pulse is focused by another hemispherical lens to the detector. Measurements are done keeping the delay constant.

<sup>a)</sup> Author to whom correspondence should be addressed; electronic mail: guilhem.gallot@polytechnique.fr

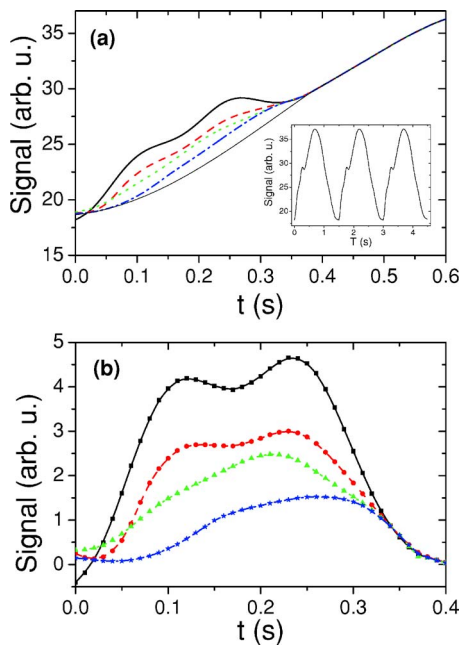


FIG. 2. (Color online) (a) Detail of the periodic terahertz amplitude signal recorded through a self-beating frog auricular heart muscle. Delay  $t$  refers to the delay after the start of each beating. Time integration is 10 ms, averaged over ten consecutive periods. Measurements are done after 5 min (thick solid black), 20 min (dashed red), 40 min (dotted green), and 50 min (dashed-dotted blue). The thin black solid line stands for the mechanical motion background. Inset shows three full mechanical oscillations. Delay  $T$  refers to the total measurement time. (b) Some terahertz ion flux signatures (at  $T=5, 20, 40,$  and  $50$  min) extracted by subtracting the reproducible mechanical motion of the muscle.

bathed in a physiological solution for few minutes. Then, a fine atrial trabeculae (100–200  $\mu\text{m}$  in diameter and 1–2 cm length) is dissected from the auricle and strongly fixed using Vaseline seal (100  $\mu\text{m}$ ) (Ref. 8) on a plate with an aperture in the middle. The fiber is constrained so that its only direction of motion is perpendicular to the plate, i.e., the direction of the terahertz beam. During the experiment, the fiber is spontaneously beating due to the self-evolution of the internal ion fluxes and develops an action potential (AP). The exceptional signal to noise ratio allows the recording with a 10 ms integration time required to resolve the signal evolution. An average of the signal over ten periods of beating reduces the noise level but does not affect the signal profile. A typical periodic signal is shown in Fig. 2(a). Because of the muscle contraction, the signal is the sum of this mechanical effect and of the variation of the ion flux. The fiber contraction mainly changes the thickness of the sample and then the absorption of the incident terahertz beam. The global motion is sinusoidal-like by the mechanical inertia of the muscle and the Vaseline environment. This motion is triggered by the self-evolution of the ion fluxes in the muscle. The self-beating signal has a period of  $1.49 \pm 0.01$  ms and the effect of ions appears at the beginning of the signal during about 400 ms. In order to remove the inertial component of the recorded signal, the constant part was fitted by a sinus function and subtracted from all the curves. Some extracted signals are presented in Fig. 2(b) with respect to the delay  $t$  after the start of the AP. The period of ion variation is found to be  $0.390 \pm 0.01$  s. These signals decline with the duration  $T$  of the experiment and are proportional to the ionic fluxes. They may correspond to the AP and are called AP signals. First, we observed a general decrease of the ion fluxes, as

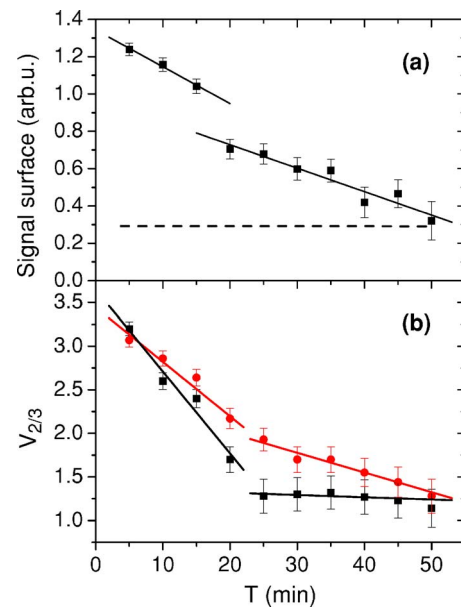


FIG. 3. (Color online) (a) Time evolution of the total surface of the action potential vs total time  $T$ . Solid lines are linear fits. The dotted line indicates when the frog auricular heart muscle stopped beating. (b) Time evolution of  $V_{2/3} = V(t=2/3t_{\text{max}})$ , where  $t_{\text{max}}$  is the time at maximum signal in the rising (square, black) and decreasing (circle, red) fronts of the signal. Solid lines are linear fits.

shown in Fig. 3(a). The decrease of the signal implies two main steps. Between  $T=0$  and 15 min the signal remained almost identical, and then a strong decrease appeared. Finally, after  $T=50$  min, the heart stopped beating. The shape of the AP signal recorded is now analyzed more precisely, since it is related to the establishment of the ion fluxes through the membrane according to conventional electrophysiology. The rising phase of this AP signal originates from the depolarization of the membrane due to a  $\text{Na}^+$  entry caused by the opening of the voltage-gated  $\text{Na}^+$  channels. Since the molar absorptions of  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{++}$  are comparable, we cannot distinguish the  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{++}$  ion fluxes during the AP plateau. The slowing down of the signal which drops after  $t=300$  ms is due to the repolarization by  $\text{K}^+$  fluxes through voltage-gated  $\text{K}^+$  channels. It should be noted that the amplitude of the  $\text{K}^+$  signal is amplified by a factor 3.5 with respect to the  $\text{Na}^+$  signal. The first signal at  $T=5$  min [Fig. 2(a)] shows the initial polarization triggering the AP signal. Afterward, the baseline is shifted positively, showing that the fiber is depolarized. Quantitatively, the amplitude of the rising and decreasing phases of the AP signal are described by the amplitude  $V_{2/3} = V(t=2/3t_{\text{max}})$ , where  $t_{\text{max}}$  is the time at maximum signal. The amplitudes  $V_{2/3}$  are shown in Fig. 3(b). They exhibit different evolutions. In the rising phase,  $V_{2/3}$  drops quickly in about 20 min, then remains low and stable.  $V_{2/3}$  might be similar to  $V_{\text{max}}$  (Ref. 8) which represents the onset of the  $\text{Na}^+$  influx. Then, a decrease of  $V_{2/3}$  implies a rapid decrease of the  $\text{Na}^+$  fluxes. The decreasing phase shows continuous drop of  $V_{2/3}$ , associated with the repolarization by  $\text{K}^+$  eflux.

After  $T=50$  min, the fiber is bathed in a fresh physiological liquid and is mechanically stimulated. Following this procedure, modifications of the duration of the ionic flow occurred, and after a period of recovery, it preceded increases of the beating period. Typical results are depicted in Fig. 4. The duration of the AP signal increased by about



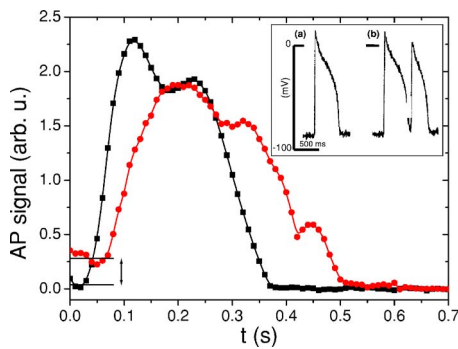


FIG. 4. (Color online) Comparison between AP signals of frog auricular fiber in the control physiological solution recorded after  $T=5$  min (square, black) and  $T=60$  min (circle, red). The inset presents the spontaneously beating frog auricle electrical activity recorded in the physiological solution using intracellular microelectrodes. (a) AP and (b) AP associated with a late arrhythmic response.

50%. The maximum of time widening of ion flow increased up to  $610 \pm 10$  ms and a second less intense AP component occurs at a delay  $t$  of about 450 ms (Fig. 4). After this point, the muscle started an erratic arrhythmic behavior which corresponds to an extra systolic event. This arrhythmic event is similar to the one occurring in spontaneously beating fibers (inset of Fig. 4). It is correlated to an abnormal positive base line of the AP signal. These data are consistent with the AP duration and frequency of spontaneously beating frog atrial fibers,<sup>8</sup> which action potential duration was ranging from 350 to 500 ms recorded using intracellular microelectrodes (inset of Fig. 4).

Finally, after the heart definitely stops beating, we performed imaging of the transverse section of one fiber. As in

all ICT measurements,<sup>1</sup> the delay remains constant and the amplitude of the signal is recorded versus the position of the fiber. The profile of the fiber originates from the difference of absorption between inside and outside the fiber. Then, the normalized curve is fitted with tabulated numerical simulations. The fiber diameter was found to be  $175 \pm 1$   $\mu\text{m}$ .

In conclusion, we showed an application of the ICT imaging in a dynamic system. We have successfully monitored the ion flow in a frog auricular muscle with a time resolution of 10 ms. We showed the direct time evolution of the ion flows during cardiac AP. These experiments open up new applications of terahertz technologies to biological systems both in imagery and time-resolved process. Furthermore, coupling the ICT imaging with terahertz guiding systems will offer new possibilities for *in vivo* research. This technique offers a promising alternative to conventional techniques, such as intracellular microelectrodes, patch clamp recording, fluorescence, and microscopy.

<sup>1</sup>J.-B. Masson, M.-P. Sauviat, J.-L. Martin, and G. Gallot, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **103**, 4808 (2006).

<sup>2</sup>A. J. Fitzgerald, E. Berry, N. N. Zinovev, G. C. Walker, M. A. Smith, and J. M. Chamberlain, Phys. Med. Biol. **47**, R67 (2002).

<sup>3</sup>R. M. Woodward, B. E. Cole, V. P. Wallace, R. J. Pye, D. D. Arnone, E. H. Linfield, and M. Pepper, Phys. Med. Biol. **47**, 3853 (2002).

<sup>4</sup>D. Crawley, C. Longbottom, V. P. Wallace, B. E. Cole, D. D. Arnone, and M. Pepper, J. Biomed. Opt. **8**, 303 (2003).

<sup>5</sup>T. Löffler, T. Bauer, K. J. Siebert, H. G. Roskos, A. Fitzgerald, and S. Czasch, Opt. Express **9**, 616 (2001).

<sup>6</sup>S. M. Kim, F. Hatami, J. S. Harris, A. W. Kurian, J. Ford, D. King, G. Scalari, M. Giovannini, N. Hoyler, J. Faist, and G. Harris, Appl. Phys. Lett. **88**, 159303 (2006).

<sup>7</sup>K. Wang and D. M. Mittleman, Nature (London) **432**, 376 (2004).

<sup>8</sup>M.-P. Sauviat, M. Marquais, and J.-P. Vernoux, Toxicol. **40**, 1155 (2002).

# Experimental evidence of percolation phase transition in surface plasmons generation

Jean-Baptiste Masson and Guilhem Gallot\*

*Laboratoire d'Optique et Biosciences, École Polytechnique,  
CNRS UMR 7645 - INSERM U696, 91128 Palaiseau, France*

(Dated: November 13, 2006)

## Abstract

Carrying digital information in traditional copper wires is becoming a major issue in electronic circuits. Optical connections such as fiber optics offers unprecedented transfer capacity, but the mismatch between the optical wavelength and the transistors size drastically reduces the coupling efficiency. By merging the abilities of photonics and electronics, surface plasmon photonics, or 'plasmonics' exhibits strong potential. Here, we propose an original approach to fully understand the nature of surface electrons in plasmonic systems, by experimentally demonstrating that surface plasmons can be modeled as a phase of surface waves. First and second order phase transitions, associated with percolation transitions, have been experimentally observed in the building process of surface plasmons in lattice of subwavelength apertures. Percolation theory provides a unified framework for surface plasmons description.

PACS numbers: 73.20.Mf, 41.20.Jb, 42.25.Fx

---

\*Corresponding author: jeanbaptiste.masson@gmail.com

Surface plasmons (SPs) plasmonics is of interest for a wide range of domains, from physics, chemistry, to biological sciences [1, 2]. SPs are associated with electromagnetic waves traveling along a metal/dielectric interface with collective motions of electrons. The tight localization of SPs at the surface of the plasmonic circuit provides the possibility of focusing and waveguiding light in subwavelength systems, which can closely interact with electronic devices. In the recent years, a renewed interest in SPs has arisen from the demonstration of a strong and unexpected enhancement of light transmission through arrays of sub-wavelength holes [3]. Enhancement of several orders of magnitude has been reported with respect to standard aperture theory [4, 5, 6]. The transmission can even exceed the surface ratio occupied by the holes, implying that light is focused by the structure of the arrays through the holes. These results are stimulating in numerous fields [1, 7, 8, 9, 10]: near field microscopy, high density storage, detection of chemical and biological molecules, light emission, optical nonlinear devices.

Since this discovery, many studies have been performed to fully understand and control SPs, involving the influence of the shape, geometry lattice and polarization in one- and two-dimensional subwavelength structures [11, 12, 13, 14, 15]. However, the fundamental question of the establishment of the SPs themselves has never been fully addressed yet. Here, we experimentally demonstrate that one- and two-dimensional SPs can be generated through a phase transition like process, separating phases of surface waves, i.e. specific organizations of the electromagnetic waves at the surface of the perforated metal plate. The analysis of the phase transitions features, and in particular the critical behavior found in 1D lattice SP establishment, leads to modeling by a percolation process. Percolation theory belongs to a universality class that unifies the description of many physical models. As a direct consequence of the established properties of percolation, this framework allows us a new insight of SPs, without the approach implying exact solving of Maxwell's equations.

The long-wavelength terahertz domain offers the advantage of the precise control of the geometry [16]. Therefore, the filling parameter of the subwavelength structures is accurately calibrated. Furthermore, the realization of ultra-thin ( $\lambda/50$ ) metal sheets removes possible wave-guiding Fabry-Pérot resonances [17]. The structures are made of free-standing electroformed ultra-thin nickel plates, with precision of design better than 1  $\mu\text{m}$ . Terahertz spectra are recorded using terahertz time-domain spectroscopy [18]. Broadband linearly polarized subpicosecond single cycle pulses of terahertz radiation are generated and coherently de-

tected by illuminating photoconductive antennas with two synchronized femtosecond laser pulses. The sample is positioned on a 10 mm circular aperture, in the linearly polarized, frequency independent, 4.8 mm-waist Gaussian THz beam ( $1/e$  in amplitude). Numerical Fourier transform of the time-domain signals with and without the sample gives access to the transmission spectrum of the subwavelength structures. The dynamics of the surface plasmons is recorded over 240 ps, yielding a 3 GHz frequency precision after numerical Fourier transform, with  $10^4$  signal to noise ratio in 300 ms acquisition time.

We studied the generation of SPs by analyzing the terahertz transmission spectra of series of free-standing subwavelength 1D and 2D lattices (figures 1A-C) with increasing quantity of metal, while the periodicity remains constant. A filling parameter  $p$  is defined as the ratio between the surface of the metal  $S_m$  and the surface of the apertures  $S_a$  in the lattice, by  $p = S_m/S_a$ , which enables to compare lattices of different shapes. SPs are built when increasing this filling parameter up to a precise level. Transmission spectra show typical resonant features, with minimum in 1D lattice (figure 1D), maximum in 2D lattice (figure 1E), and for both, a frequency shift  $\Delta\nu = \nu - \nu_0$  of the first resonance is associated with the metal filling, where  $\nu_0$  is the constant resonance frequency at low fillings. Indeed, in thin metal grids, resonant profiles due to diffraction over the periodic structure are observable near the transition and still allow defining a resonance frequency. Furthermore, we define the energy  $U$  as the total electromagnetic energy blocked by the plate, and can be directly accessed from the transmission of the terahertz beam through the system  $U = 1 - \int |A_t(t)|^2 dt / \int |A_0(t)|^2 dt$ , where  $A_t$  and  $A_0$  are the measured amplitudes of the electric fields with and without the sample, respectively. We then define a geometric capacity  $C$  linking the internal energy to the filling parameter, by  $C = \partial U / \partial p$ . We focused on the observation and evolution of these parameters, which provide fundamental insights on the nature of the generation of SPs.

Series of two-dimensional arrays of squared and round subwavelength holes (36 lattices each) have been analyzed (figure 1B-C). Incident linear polarization is sent along direction  $x$ . At low metal fillings, transmission spectra (figure 1E black) show two large resonance features with a factor 2 between the resonance frequencies and no frequency dependent shift. The incident electromagnetic wave is diffracted through the subwavelength apertures (Bethe's theory [19]) and the transmitted waves interfere over the hole array. At high values of the filling parameter on the contrary, typical features of 2D lattice SPs can be observed

(figure 1E color) with sharp maxima and resonance frequencies scaling as  $\sqrt{2}$ . A resonance frequency shift with  $p$  is also observed, with precision better than 2 GHz. For tiny holes, first and second resonances agree well with theoretical resonance frequencies given by Bloch wave model at 0.5 and 0.71 THz, respectively [4], for a lattice period of  $L = 600 \mu\text{m}$ . Increasing the filling parameter, experiments show clear discontinuity of the first resonance frequency and geometric capacity, at a specific transition filling parameter, both for squared (figure 2A and C) and round holes (figure 2B and D). This behavior is highly evocative of a first order phase transition. Transition filling parameter is the same for frequency shift and capacity, but different between squared and round holes,  $p = 1.03 \pm 0.01$  and  $p = 1.37 \pm 0.01$ , respectively. It may also be related to a cut-off for the polariton propagation along the surface. Frequency shift is constant below the transition filling parameter and then monotonously increases after the discontinuity in the SP phase. It converges toward the value given for tiny holes, which is the same for squared and round holes [3]. Frequency shift and capacity show different behavior whether the holes are squared or circular, with different transition filling parameter and discontinuity amplitude, confirming that SP is strongly influenced by the shape of the subwavelength holes. In addition, we have performed numerical simulations. We carried out a direct resolution of Maxwells equations through a full three-dimensional (3D) *ab initio* Finite Element Method (FEM) analysis of the electric field propagating trough the array [15]. Results of the frequency shift for square and round apertures are shown in figure 2, and demonstrate clear discontinuity at the same filing parameters found in the experiments.

The one-dimensional subwavelength lattices are made of very narrow slits (figure 1A). Series of 1D subwavelength lattices of increasing filling has been realized with constant lattice period  $L = 400 \mu\text{m}$ . The terahertz beam is sent perpendicularly to the lattice surface and linear polarization has an angle  $\theta$  with respect to the transverse direction  $y$ . At low fillings, the subwavelength slits behave as standard polarizers. In particular, the spectra show a modulation with minimum resonances given by the diffraction over the metal lines (figure 1D black), and the amplitude spectra scale proportionally to  $\cos(\theta)$ , with no resonance shift. On the contrary, at high fillings, the spectra show evidence of typical 1D SPs (figure 1D red) with nearly zero minimum resonance of transmission (0.75 THz at  $\theta = 0^\circ$ ). Furthermore, this minimum shifts toward the low frequencies when incident polarization is rotated, due to the change of the projected apparent period. We measured the frequency shift for a set of 60 lattices of different filling parameters. For each angle  $\theta$ , the evolution of the frequency shift

with the filling is characteristic of a second order phase transition (figure 3A). The frequency shift remains constant in the low filling range, up to a critical value  $p_c = 1.583 \pm 0.005$ , from which it continuously increases. This characteristic behavior is similar for all the incident polarizations. Evolution of the frequency shift versus the incident polarization angle shows sinusoidal variations (figure 3B) as  $\Delta\nu = \overline{\Delta\nu} \sin(\theta - \theta_0)$ , where  $\overline{\Delta\nu}$  is the intrinsic frequency shift and  $\theta_0$  a possible small experimental angular misalignment. Precision on  $\overline{\Delta\nu}$  is better than 1 GHz at maximum deviation. Defining a normalized filling parameter  $\tau = (p - p_c)/p_c$ , the evolution of the frequency shift in the SP domain near  $p_c$  follows  $\overline{\Delta\nu} \propto |\tau|^\beta$ , where  $\beta$  is the critical coefficient associated with the frequency shift. Using  $\overline{\Delta\nu}$ , one obtains the critical coefficient  $\beta = 0.98 \pm 0.04$  (figure 3C). Geometric capacity is also analyzed from internal energy. Capacity shows diverging features near  $p_c$  (figure 4). Geometric capacity evolves as  $C \propto |\tau|^\alpha$ , where  $\alpha$  is the critical coefficient associated with capacity. For both sides of  $p_c$  (see inset in figure 4), this critical coefficient has a value of  $\alpha_+ = -0.99 \pm 0.08$  and  $\alpha_- = -0.97 \pm 0.08$ , above and below  $p_c$ , respectively.

The analysis of the experimental data is now discussed. The main first point is that the data can not be fully understood by existing models of SPs. These models intrinsically consider the existence of only one possible state for the surface wave. Waveguide analysis or Bloch wave analysis provide an approximation of the resonance frequency [20] and give good values only in the limit case where the apertures are very tiny. Further refinements consist in decomposition on a basis, such as Rayleigh expansion, but their linear features fundamentally prohibit discontinuity. This discrepancy is illustrated from [21] in figure 2 (dashed lines). On the contrary, we have observed here a first order transition behavior in 2D lattice, associated with the simultaneous discontinuity of both frequency shift and geometric capacity at the same filling value. Moreover, in 1D lattice, power law evolution of frequency shift and capacity is intimately linked to second order phase transition, and the critical coefficients are clearly in favor of a percolation process. Another strong hint is the polarization response below and above  $p_c$ . There is a spontaneous symmetry breaking phenomenon at  $p_c$ , since original isotropic response below  $p_c$  is broken. Indeed, at low fillings, the shape of the spectra remains unchanged with the rotation of the incident polarization. On the contrary, the frequency resonance shifts with the polarization angle above  $p_c$  (see figure 3A), corresponding to a disappearing of the symmetry. Therefore, the generation of SPs can be described in a phase transition framework. The first phase ( $p < p_c$ ) consists of

non resonant surface waves diffracted by the lattice in a way similar to Bethe description [19]. The second phase ( $p > p_c$ ) is SPs characterized by a resonant interaction with the lattice.

Complex systems can be described by statistical physics, in particular systems involving geometrical consideration, such as percolation in conductivity, polymerization or forest fire propagation. In the same way, in ferromagnetic/paramagnetic transitions, only the measurement of the linear magnetic susceptibility gives access to the second order phase transition. Phase transitions imply local non linear interactions. Even though the measured quantities are linear with respect to the electromagnetic wave going through the plate, the variation of the size of the aperture changes the relative contribution of far- and near-field interactions, which behave as  $1/r$  and  $1/r^3$ . Thus, non linear features with respect to the geometry are the key of the understanding of our system. Furthermore, the screen transmission is not linear with the number of holes, since the transmitted signal is not the sum of the signal of a single hole.

From macroscopic measurements, we demonstrated the phase transition origin of SP generation. Universality class theory shows that the critical exponents for the phase transitions for broad classes of physical systems are the same. Therefore, a model describing a specific system can be extended to another system within its universality class. Then, experimental critical values of  $\alpha$  and  $\beta$ , associated with universality of percolation theory provide us a microscopic description of SP generation. The first order phase transition is also described by percolation and the difference between 1D and 2D lattices originate from the change of degree of freedom in the system. Percolation transition describes microscopic “sites” linked together by “bonds”. Consequences of percolation theory are that in SPs the sites are the (randomly moving) surface electrons, and the bonds are the coupling between the electrons and photons from the electromagnetic wave. Surface electrons are locally correlated by the interaction with the electromagnetic wave, defining a cluster of electrons as an ensemble of correlated surface electrons. A percolation transition then occurs when the first cluster reaches the size of the screen. At low filling factor, the size of the clusters is small, electrons only interact locally, and no SPs are present (cf figure 1D-E). When  $p > p_c$ , large groups of surface electrons interact together, forming clusters of macroscopic size and establishing a SP. Furthermore, the experimental critical parameters  $\alpha \approx -1$  and  $\beta \approx 1$  can be related to the percolation class of Cayley tree [22], which provides the critical evolution of the cluster

size, as  $\chi \propto |p - p_c|^{-\gamma}$ , with  $\gamma = 1$ .

It has been demonstrated that SPs are a phase of surface electrons coupled to photons, and that SP building implies percolation phase transitions with respect to a filling parameter. In 2D lattice, a first order phase transition exhibits discontinuity of order parameter and geometric capacity, associated with a hole shape dependent transition filling parameter. In 1D lattice, second order phase transition was analyzed and two critical coefficients measured, associated with Bethe lattice percolation model. Under critical conditions, correlation length diverges, with the consequence that information can be coherently transmitted through the plasmonic device on very large distance. Furthermore, 1D SP lattice appears to be promising easy-to-handle experimental tools for studying second order phase transitions.



- 
- [1] W. L. Barnes, A. Dereux, and T. W. Ebbesen, *Nature* **424**, 824 (2003).
- [2] E. Ozbay, *Science* **311**, 189 (2006).
- [3] T. W. Ebbesen, H. J. Lezec, H. F. Ghaemi, T. Thio, and P. A. Wolff, *Nature* **391**, 667 (1998).
- [4] L. Martin-Moreno, F. J. Garcia-Vidal, H. J. Lezec, K. M. Pellerin, T. Thio, J. B. Pendry, and T. W. Ebbesen, *Phys. Rev. Lett.* **86**, 1114 (2001).
- [5] J. A. Porto, F. J. Garcia-Vidal, and J. B. Pendry, *Phys. Rev. Lett.* **83**, 2845 (1999).
- [6] A. P. Hibbins, B. R. Evans, and J. R. Sambles, *Science* **308**, 670 (2005).
- [7] Y. Liu and S. Blair, *Opt. Lett.* **28**, 507 (2003).
- [8] R. Sambles, *Nature* **391**, 641 (1998).
- [9] J. Vuckovic, M. Loncar, and A. Scherer, *IEEE J. Quantum Electron.* **36**, 1131 (2000).
- [10] E. Altewischer, M. P. v. Exter, and J. P. Woerdman, *Nature* **418**, 304 (2002).
- [11] J. B. Pendry, L. Martin-Moreno, and F. J. Garcia-Vidal, *Science* **305**, 847 (2004).
- [12] R. Gordon, A. G. Brolo, A. McKinnon, A. Rajora, B. Leathem, and K. L. Kavanagh, *Phys. Rev. Lett.* **92**, 037401 (2004).
- [13] D. S. Kim, S. C. Hohng, V. Malyarchuk, Y. C. Yoon, Y. H. Ahn, K. J. Yee, J. W. Park, J. Kim, Q. H. Park, and C. Lienau, *Phys. Rev. Lett.* **91**, 143901 (2003).
- [14] K. J. K. Koerkamp, S. Enoch, F. B. Segerink, N. F. v. Hulst, and L. Kuipers, *Phys. Rev. Lett.* **92**, 183901 (2004).
- [15] J.-B. Masson and G. Gallot, *Phys. Rev. B* **73**, 121401(R) (2006).
- [16] D. Qu and D. Grischkowsky, *Phys. Rev. Lett.* **93**, 196804 (2004).
- [17] Q. Cao and P. Lalanne, *Phys. Rev. Lett.* **88**, 057403 (2002).
- [18] D. Grischkowsky, S. R. Keiding, M. van Exter, and C. Fattinger, *J. Opt. Soc. Am. B* **7**, 2006 (1990).
- [19] H. A. Bethe, *Phys. Rev.* **66**, 163 (1944).
- [20] H. Raether, *Surface Plasmons* (Springer-Verlag, Berlin, 1988).
- [21] C.-C. Chen, *IEEE trans. microwave theo. tech.* **21**, 1 (1973).
- [22] F. Schwabl, *Statistical mechanics* (Spinger, Berlin, 2002).

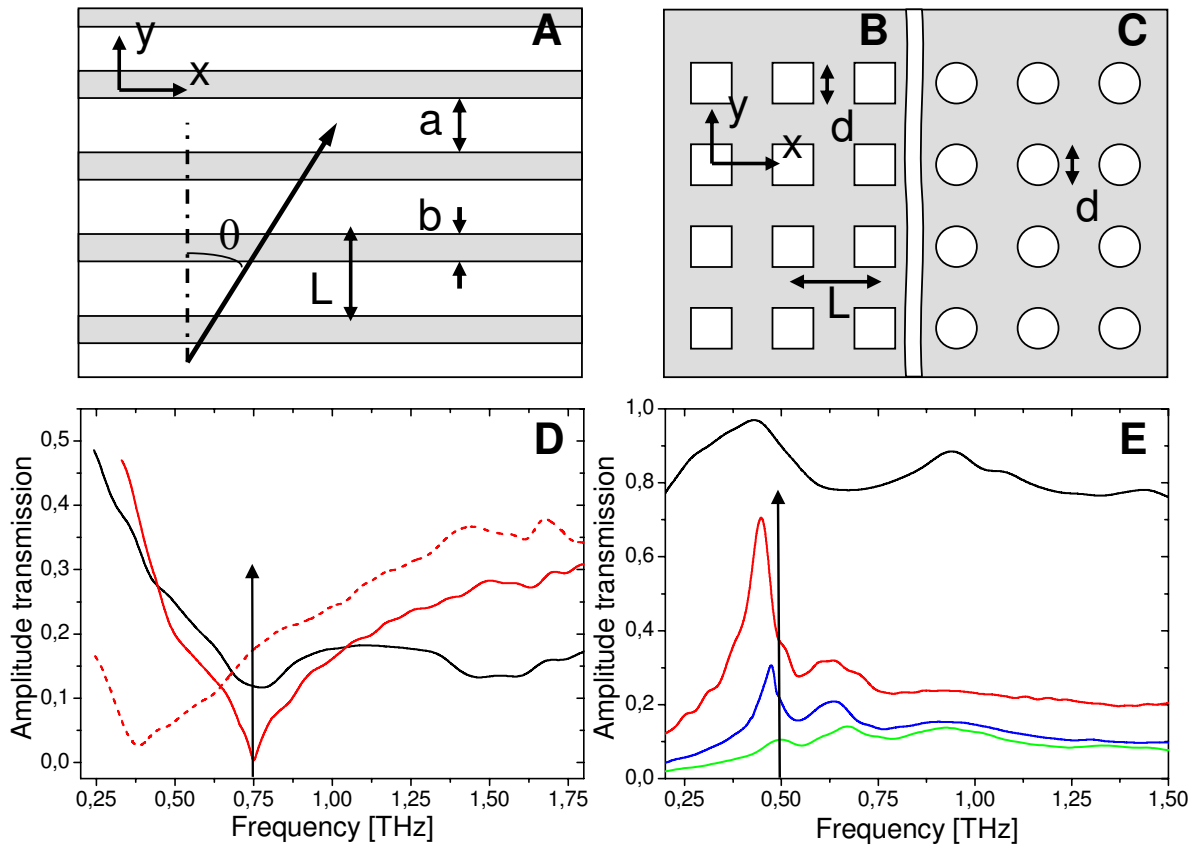
## Figures

FIG. 1: **Geometry** of the 1D **(A)** and 2D **(B-C)** lattices. **Terahertz transmission spectra.** **(D)** 1D lattice spectra, at low filling ( $p = 1.5$ , black line) and high filling ( $T=1.67$ ,  $\theta = 0^\circ$  solid red line,  $\theta = 80^\circ$  dashed red line). **(E)** 2D lattice spectra of squared holes, at low filling ( $p = 0.78$ , black line) and high filling ( $p = 3.3$  green line,  $p = 7.2$  blue line,  $p = 9$  red line). Arrows show theoretical Bloch wave theory frequencies.

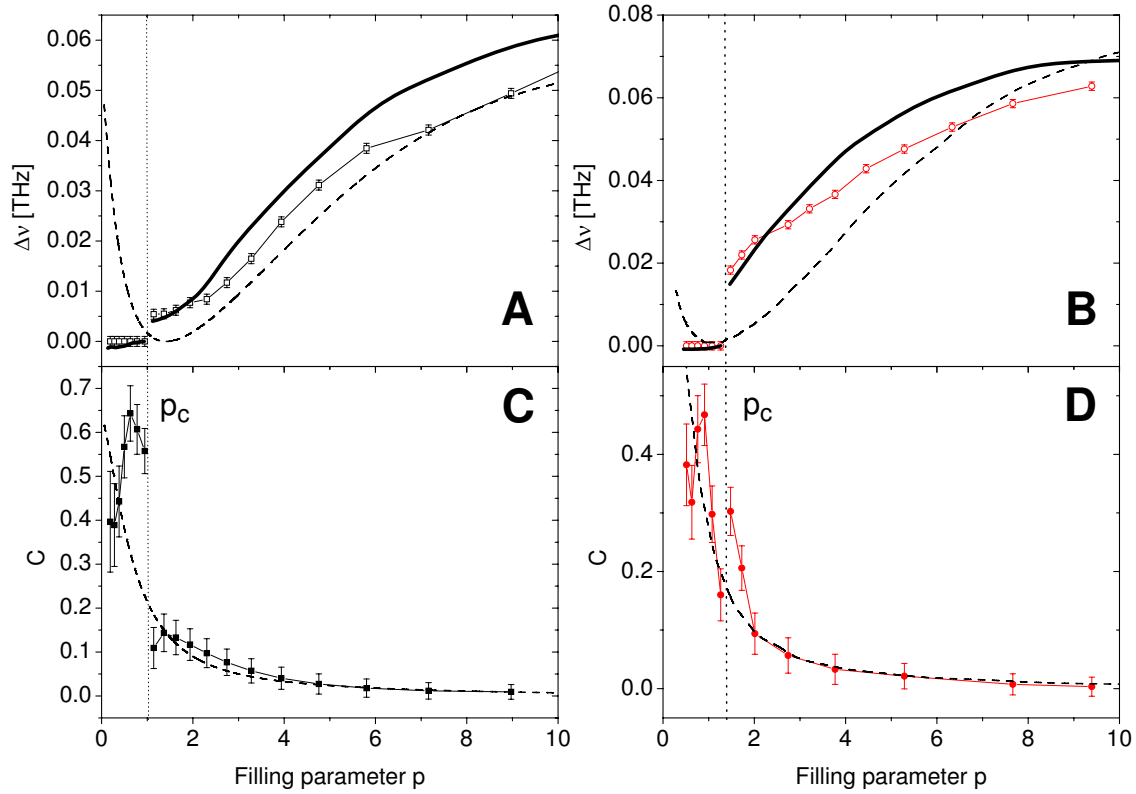
FIG. 2: **First order phase transition in 2D lattices.** Evolution of the frequency shift for squared holes **(A)** and round holes **(B)**. Solid lines are 3D FEM numerical simulations of the evolution of the frequency shift. Evolution of geometric capacity for squared holes **(C)** and round holes **(D)**. Transition filling parameters for squared and round holes are  $p = 1.03 \pm 0.01$  and  $p = 1.37 \pm 0.01$ , respectively. Dashed lines are linear calculations from [21].

FIG. 3: **Second order phase transition in 1D lattice: resonance frequency shift.** **(A)** Evolution of the frequency shift  $\Delta\nu$  with filling parameter and corresponding slit width, for incident polarization angle  $\theta = 80^\circ$  (black),  $45^\circ$  (red) and  $20^\circ$  (blue). Critical filling parameter is  $p_c = 1.583 \pm 0.005$ . **(B)** Evolution of the frequency shift with incident polarization at  $p = 1.67$  for experimental data (solid circles), and sinusoidal fit (solid line). **(C)** Evolution of the frequency shift versus normalized filling parameter in logarithm scale showing the critical behaviour for data (circles) and critical evolution fit with  $\beta = 0.98 \pm 0.04$  (solid line).

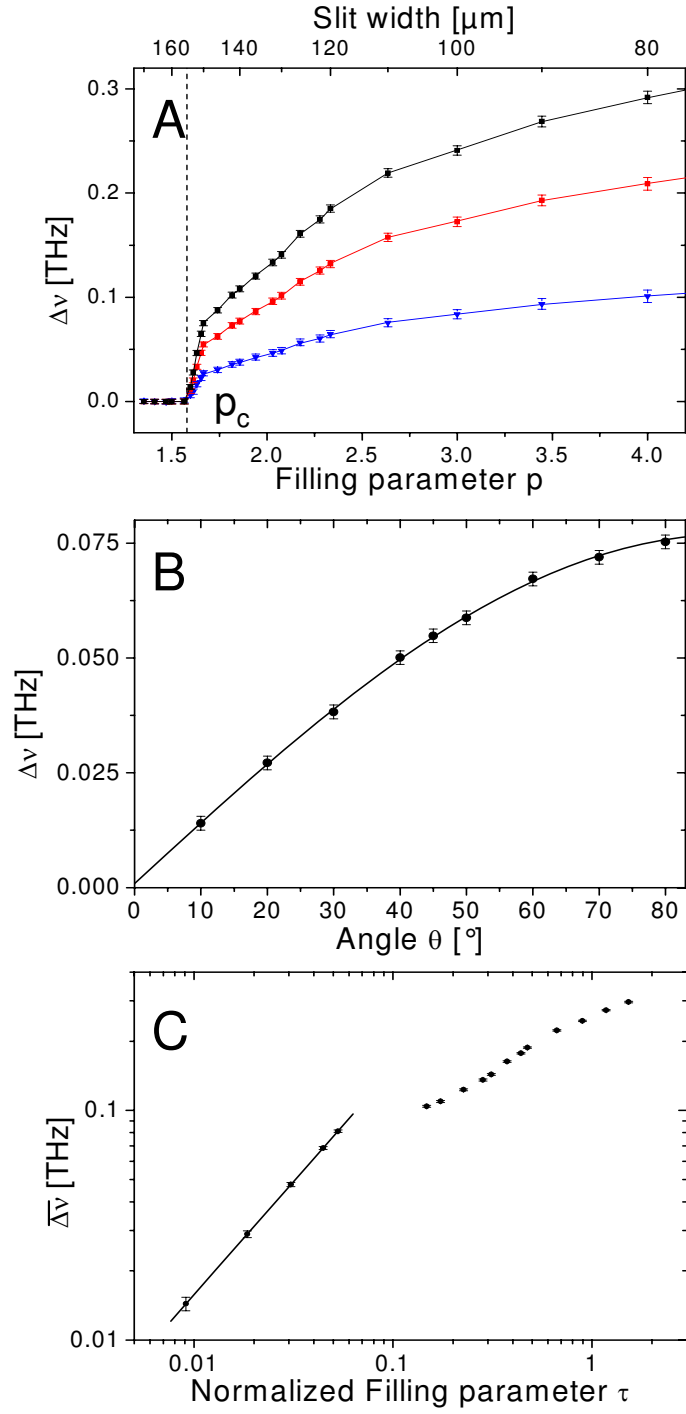
FIG. 4: **Second order phase transition in 1D lattice: geometric capacity.** Evolution of capacity versus filling parameter for experimental data (circles) and critical divergence fit (solid lines). Inset shows critical evolution at both sides of the critical filling parameter, with  $\alpha_+ = -0.99 \pm 0.05$  and  $\alpha_- = -0.97 \pm 0.05$ , above and below  $p_c$ , respectively.



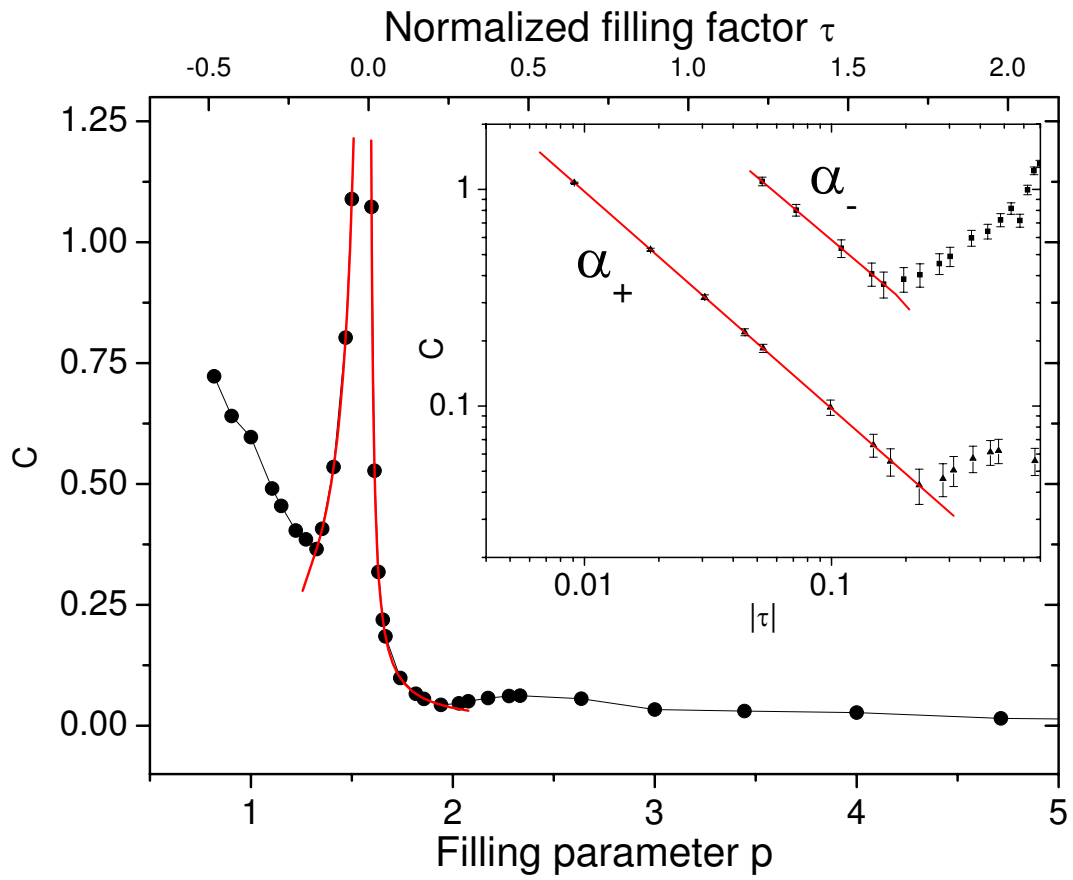
Masson et al. Figure 1



Masson et al. Figure 2



Masson et al. Figure 3



Masson et al. Figure 4

# Extra energy coupling through subwavelength hole arrays via stochastic resonance

Jean-Baptiste Masson\* and Guilhem Gallot†

*Laboratoire d'Optique et Biosciences, Ecole Polytechnique,  
CNRS, INSERM, 91128 Palaiseau, France*

(Dated: May 1, 2007)

Abstract

PACS numbers: 73.20.Mf, 05.40.Ca, 41.20.Jb

arXiv:0704.3945v1 [cond-mat.other] 30 Apr 2007



Interaction between metal surface waves and periodic geometry of subwavelength structures is at the core of the recent but crucial renewal of interest in plasmonics<sup>1,2,3,4</sup>. One of the most intriguing points is the observation of abnormal strong transmission through these periodic structures, which can exceed by orders of magnitude the classical transmission given by the filling factor of the plate<sup>3</sup>. The actual paradigm is that this abnormal transmission arises from the periodicity, and then that such high transmission should disappear in random geometries. Here, we show that extra energy can be coupled through the subwavelength structure by adding a controlled quantity of noise to the position of the apertures. This result can be modelled in the statistical framework of stochastic resonance. The evolution of the coupled energy with respect to noise gives access to the extra energy coupled at the surface of the subwavelength array.

We investigated the transmission of subwavelength arrays with a controlled quantity of noise added to the position of the subwavelength apertures, in order to study how plasmonic properties would disappear with addition of noise. Most surprisingly, our experimental results demonstrate a strong increase of coupled energy through the array by adding a small quantity of noise to the lattice. This unexpected extra energy coupling could not be modelled using standard plasmonic theories<sup>5,6,7,8</sup>, such as Bethe, Bloch waves or CDEW models, since they intrinsically predict maximum energy coupling with perfectly periodic organization. We explain our results using stochastic resonance theory<sup>9</sup>, which describes how a system can be optimized by the presence of a certain amount of noise. Furthermore, the evolution of the coupled energy for relatively large values of noise gives access to fundamental characteristics of the establishment of the electromagnetic propagation and coupling at the surface. It allows the direct measurement of the extra energy coupled at the surface of the screen originating from the creation of the abnormal high transmission process.

Experiments were made in the terahertz domain since this domain is particularly suited for this study thanks to the lack of plasma resonance on metals in this part of the electromagnetic spectrum, and to the high precision achievable in the screen design. We designed noised arrays of squared subwavelength apertures by adding Gaussian noise displacements to the hole centres with a standard deviation  $\sigma$  (see Fig. 1). No deviation ( $\sigma = 0$ ) corresponds to perfectly periodic structure, while high deviations deal with fully random aperture positions. Numerous plates have been investigated, one for each noise deviation. Three typical experimental spectra are shown in Fig. 2. For perfectly periodic arrays ( $\sigma = 0$ ), the spec-

trum exhibits the usual strong asymmetrical first resonance and a second resonance scaling as  $\sqrt{2}$ . For large deviations ( $\sigma = 60 \pm 0.5 \mu\text{m}$ ), spectra show a less intense, much wider and symmetrical resonance, and no clear shapes for higher frequencies. For low quantity of noise, a much unexpected behaviour is observed for a small amount of noise ( $\sigma = 15.4 \pm 0.5 \mu\text{m}$ ). Here, the spectrum exhibits a much stronger resonance. This resonance is still asymmetrical, and the complete spectrum exhibits all usual Surface Plasmon Polaritons (SPPs) features, but more energy is coupled through the array. This result is clearly unexpected, and seems to indicate that noise added to the structure increases the coupled energy. To explain these results, the evolution of transmitted spectrum with the amount of noise has been studied. To reduce the influence of spectrum artefacts due to specific patterns generated on the noised arrays, we introduce the transmission of the array  $T = E_t/E_0$ , where  $E_t$  and  $E_0$  are the total transmitted and incident energies, respectively. On Fig. 3, evolutions of  $T$  versus  $\sigma$  are shown for both arrays of period  $L = 300 \mu\text{m}$  (Fig. 3A) and  $L = 400 \mu\text{m}$  (Fig. 3B). We observe that  $T$  increases up to a specific value of deviation,  $\sigma_M$ , and then decreases. There is a clear resonance of  $T$  with respect to noise. For  $L = 300 \mu\text{m}$  and  $L = 400 \mu\text{m}$  arrays, this relative increase of energy is respectively of  $18.2 \pm 0.01\%$  and  $11 \pm 0.01\%$ . The maxima of  $T$  correspond to  $\sigma_M = 10.4 \pm 0.5 \mu\text{m}$  and  $\sigma_M = 15.4 \pm 0.5 \mu\text{m}$ , only  $3.4\%$  and  $3.8\%$  of the array period, respectively. At the resonance frequency, the energy loss has been reduced by 2.7 for  $L = 400 \mu\text{m}$  (Fig. 2). For  $\sigma \geq \sigma_M$ ,  $T$  continuously decreases as one would have previously expected.

In a first attempt to describe this unexpected extra energy coupling, several models currently used to describe abnormal transmission through periodic subwavelength arrays have been tested: Block wave theory<sup>10</sup>; calculation based on pure diffraction effects, derived on Bethe diffraction theory<sup>11</sup>; Composite Diffracted Evanescent Wave theory<sup>12,13</sup> which provides some extra adjustable parameters; Fano model<sup>14</sup>. Results are shown in addition to experimental data in Fig. 3B. None of them could reproduce the observed features, since they intrinsically rely on the periodicity to explain the resonance frequencies and coupling yield.

The question of modelling this unexpected energy coupling will now be addressed. Physical systems where the increase of noise leads to a rise of the output energy can be integrated into the Stochastic Resonance (SR) framework. SR was first introduced by Benzi *et al*<sup>15</sup> in order to describe global climate oscillations between ice and temperate ages, showing that

white noise could help a bistable system to change state at the same frequency than a very weak periodic coupling interaction. This model was more rigorously treated by McNamara *et al*<sup>9</sup>, using master equation formalism in a system of two coupled levels in interaction with a Gaussian noise and showing that specific values of noise could increase the exchange rate of particles between the two levels. Today, SR theories have been extended to non negligible or non periodic coupling, coloured noise, non Markovian processes and finally multilevel systems, and are widely used to model neuronal signal generation, chemical reactions, some colloidal solutions properties, ionic channels activation, public opinion changes, and some complex auto organization processes<sup>16,17,18,19,20,21</sup>.

A SR McNamara-like model will be used to describe our experimental data. Among the theories describing the abnormal transmission through subwavelength hole arrays, the Fano model (Figure 4A) draws an interesting parallel between the scattering process through a continuum of states interacting with an isolated state and the diffusion of light through the array<sup>14,22,23</sup>. The continuum of states describes the light directly crossing the array, either through the aperture, or either re emitted by the edge of the holes. And the resonant states are the surface waves. This model allows describing both propagation and scattering on complex arrays and gives good experimental data fits, and can easily be related to SR theories by the existence of discrete levels. Furthermore, it has been observed that the SR gets enhanced if an array of similar elements collectively responds to the same signal. This phenomenon has been termed the array enhanced stochastic resonance (AESR)<sup>24,25</sup>. We then modeled the present experiment giving the evolution of  $T$  versus  $\sigma$  as the sum of many individual stochastic resonance (Figure 4B), and  $T$  is the result of SPPs scattering with a global stochastic resonance, which is the sum of all SR effects between couples of levels. As a direct consequence of the choice of this model, the fitting function is given by a Lorentzian function<sup>9</sup>

$$T = T_o + A_1 \frac{\omega^2}{4(\sigma - \sigma_M)^2 + \omega^2}, \quad (1)$$

where  $\sigma_M$  is the optimum noise level and  $\omega$  the width of the resonance. As can be seen in Fig. 3 (thin solid lines), this model reproduces very well the resonance of the transmissions for low amounts of noise. However, it does not correctly describe the evolution of the transmission for large values of  $\sigma$ . It could not be explained by a hypothetic inhomogeneous broadening of the resonant features by increasing noise, neither by a broadening of the

discrete level in the Fano model.

The residual part of the transmission at high noise deviations for  $L = 400 \mu\text{m}$  (Fig. 3B) is very similar to a sigmoid function<sup>26</sup>, which describe the statistic equilibrium between two states. The total evolution of  $T$  with  $\sigma$  can then be described as the combination of SR theory and classical two level equilibrium theory

$$T = T_o + A_1 \frac{\omega^2}{4(\sigma - \sigma_M)^2 + \omega^2} + \frac{A_2}{1 + \exp [(\sigma - \sigma_o) / \Delta\sigma]}, \quad (2)$$

Fits are shown in Fig. 3. A very good agreement between fits and experiments is observed, in both the resonance domain and the decreasing domain. The resonance width  $\omega$  for  $L = 300 \mu\text{m}$  and  $L = 400 \mu\text{m}$  are found to be  $21.6 \mu\text{m}$  and  $9.1 \mu\text{m}$ , respectively. The resonance width characterizes the sensitivity of the SR process with the period  $L$  of hole on the screen, and highlights the sensitivity of SPPs generation and propagation to the relation between noise and periodicity. As  $\sigma$  increases, the arrays become closer to random hole arrays in which resonant surface waves are absent. The fraction of increased energy coupled by the resonant wave is found to be  $0.14 \pm 0.01$  compared to random arrays (see Fig. 3B).

In conclusion, the idea that the strong abnormal transmission only originates from the perfect periodic structure of subwavelength hole arrays should be revised. Indeed, extra energy can be coupled through the array by adding a small controlled amount of noise to the position of the holes Energy increase of about 20% has been reported, 5 fold larger than the relative noise deviation. This new transmission can be modelled with stochastic resonance theory. The evolution of the transmitted energy can be modelled as an equilibrium between a perfect organized and a completely random state, leading to the extra electromagnetic energy coupled at the surface of the screen.

From these experiments two main axes of reflection are drawn. In both visible and near infrared range subwavelength hole arrays experiments, SR effects will have important consequences. Errors on hole position of few nanometres can strongly change coupled energy and may alter experimental reproducibility and this may be a limiting factor to size decreasing in all plasmonic technologies. Furthermore, since small structural modifications have strong effects, stochastic resonance should be a powerful help in detection-related technologies. It may also lead to new interpretations and new applications in three dimensional systems dealing with phonon propagation and photonic crystals technology.

## Materials and Methods

The samples are free-standing 8- $\mu\text{m}$ -thick nickel-plate arrays of subwavelength squared holes, with  $L = 300 \mu\text{m}$  and  $L = 400 \mu\text{m}$  period, fabricated by electroforming. In all samples, the ratio of the surface of metal over the surface of holes is equal to 3 so that a major part of the transmitted signal is established via the SPPs. Noised arrays are generated so that the minimal distance between any parts of two nearby holes remains larger than  $5 \mu\text{m}$ . All arrays have more than one thousand apertures so that the statistic of hole displacement is as close as possible to a perfect Gaussian statistic. The precision over the hole size and periodicity is better than  $1 \mu\text{m}$ . For each standard deviation, a difference plate has been used, so a total of 20 plates for  $L = 300 \mu\text{m}$  and 30 plates for  $L = 400 \mu\text{m}$ . The enhanced transmission of the arrays is measured by terahertz time-domain spectroscopy (THz-TDS)<sup>27</sup>. Broadband linearly polarized subpicosecond single cycle pulses of terahertz radiation are generated and coherently detected by illuminating photoconductive antennas with two synchronized femtosecond laser pulses. Numerical Fourier transform of the time-domain signals gives access to the characteristic transmission spectrum of the arrays. The transmitted electric field is recorded during 240 ps, yielding to a 3 GHz frequency precision after numerical Fourier transform, with  $10^4$  signal to noise ratio in 300 ms acquisition time. A reference scan is taken with empty aperture. The transmission of the metal array is calculated by the amplitude ratio of the complex spectra of the metal plate and reference scan.

---

\* Electronic address: jean-baptiste.masson@polytechnique.edu

† Electronic address: guilhem.gallot@polytechnique.edu

<sup>1</sup> T. W. Ebbesen, H. J. Lezec, H. F. Ghaemi, T. Thio, and P. A. Wolff, *Nature* **391**, 667 (1998).

<sup>2</sup> W. L. Barnes, A. Dereux, and T. W. Ebbesen, *Nature* **424**, 824 (2003).

<sup>3</sup> E. Ozbay, *Science* **311**, 189 (2006).

<sup>4</sup> A. Nahata, R. A. Linke, T. Ishi, and K. Ohashi, *Opt. Lett.* **28**, 423 (2003).

<sup>5</sup> M. Sarrazin, J.-P. Vigneron, and J.-M. Vigoureux, *Phys. Rev. B* **67**, 085415 (2003).

<sup>6</sup> J. A. Porto, F. J. Garcia-Vidal, and J. B. Pendry, *Phys. Rev. Lett.* **83**, 2845 (1999).

<sup>7</sup> K. G. Lee and Q.-H. Park, *Phys. Rev. Lett.* **95**, 103902 (2005).

- <sup>8</sup> D. Crouse and P. Keshavareddy, *Opt. Exp.* **13**, 7760 (2005).
- <sup>9</sup> B. McNamara and K. Wiesenfeld, *Phys. Rev. A* **39**, 4854 (1989).
- <sup>10</sup> C. Kittel, *Introduction to solid state physics* (Wiley, Chichester, 1996).
- <sup>11</sup> H. A. Bethe, *Phys. Rev.* **66**, 163 (1944).
- <sup>12</sup> G. Gay, O. Alloschery, B. V. d. Leseugno, C. O'Dwyer, J. Weiner, and H. J. Lezec, *Nature Physics* **2**, 262 (2006).
- <sup>13</sup> P. Lalanne and J. P. Hugonin, *Nature Physics* **2**, 551 (2006).
- <sup>14</sup> C. Genet, M. P. v. Exter, and J. P. Woerdman, *Opt. Comm.* **225**, 331 (2003).
- <sup>15</sup> R. Benzi, A. Sutera, and A. Vulpiani, *J. Phys. A: Math. Gen.* **14**, L453 (1981).
- <sup>16</sup> I. Goychuk, P. Hnggi, J. L. Vega, and S. Miret-Arts, *Phys. Rev. E* **71**, 061906 (2005).
- <sup>17</sup> A. Simon and A. Libchaber, *Phys. Rev. Lett.* **68**, 3375 (1992).
- <sup>18</sup> D. Babic, C. Schmitt, I. Poberaj, and C. Bechinger, *Europhys. Lett.* **67**, 158 (2004).
- <sup>19</sup> R. L. Badzey and P. Mohanty, *Nature* **437**, 995 (2005).
- <sup>20</sup> B. Lindner, M. J. Chacron, and A. Longtin, *Phys. Rev. E* **72**, 021911 (2005).
- <sup>21</sup> R. K. Adair, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **100**, 12099 (2003).
- <sup>22</sup> E. Altewischer, X. Ma, M. P. v. Exter, and J. P. Woerdman, *Opt. Lett.* **30**, 2436 (2005).
- <sup>23</sup> J.-B. Masson and G. Gallot, *Phys. Rev. B* **73**, 121401(R) (2006).
- <sup>24</sup> J. F. Lindner, B. K. Meadows, W. L. Ditto, M. E. Inchiosa, and A. R. Bulsara, *Phys. Rev. Lett.* **75**, 3 (1995).
- <sup>25</sup> C. Zhou and J. Kurths, *Phys. Rev. E* **69**, 056210 (2004).
- <sup>26</sup> P. W. Atkins, *Physical chemistry* (Oxford University Press, Oxford, 1997).
- <sup>27</sup> D. Grischkowsky, S. R. Keiding, M. van Exter, and C. Fattinger, *J. Opt. Soc. Am. B* **7**, 2006 (1990).

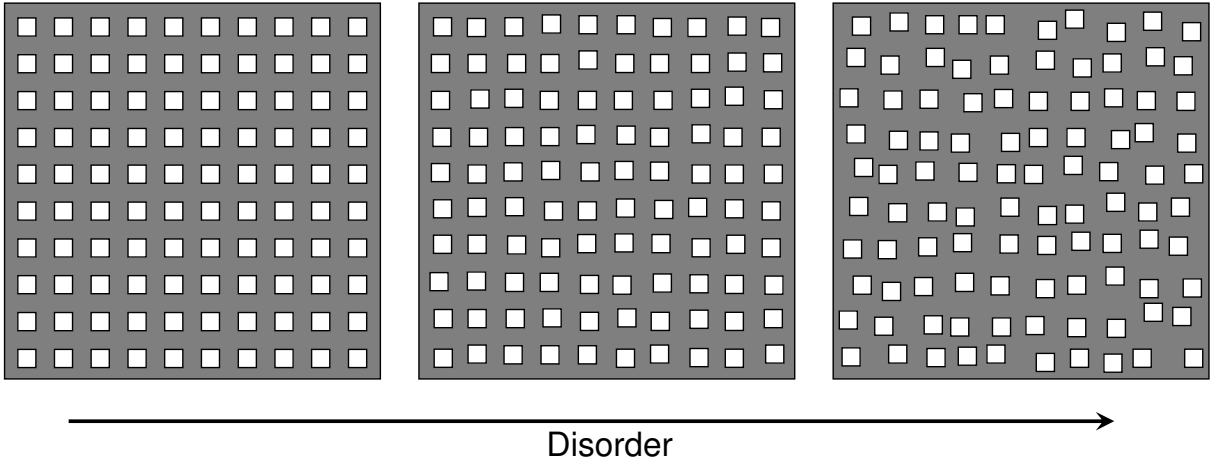
## Figures

FIG. 1: Example of arrays, from a perfect ordered array (left), to a noised array (right).

FIG. 2: Example among the 30 plates used in the experiment of transmitted energy spectra for  $L = 400 \mu\text{m}$ -period plates with noise deviation  $\sigma=0$  (black line),  $\sigma=12 \mu\text{m}$  (red line) and  $\sigma=60 \mu\text{m}$  (green line).

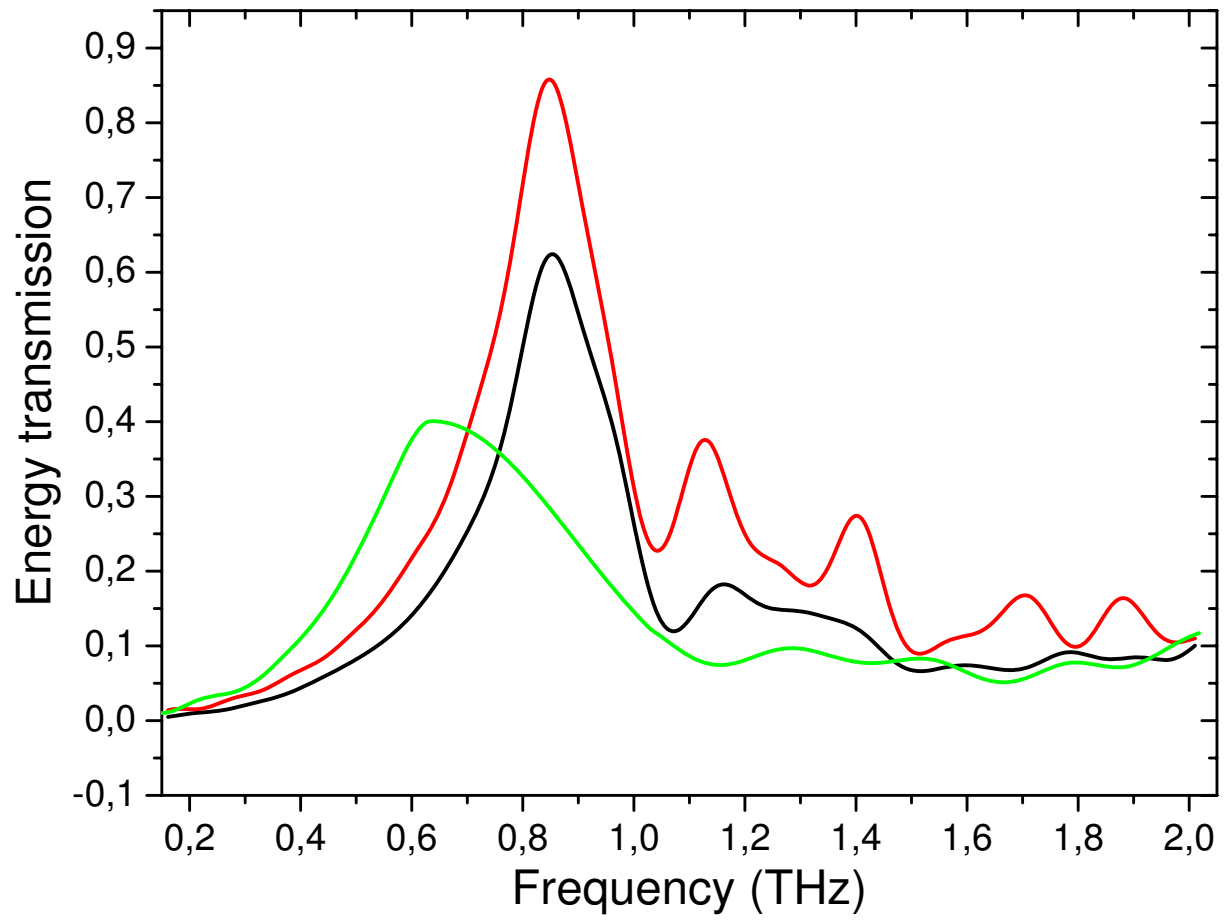
FIG. 3: Evolution of the energy transmission with the noise deviation  $\sigma$  for  $L = 300 \mu\text{m}$  (**A**) and  $L = 400 \mu\text{m}$  (**B**). The black dots are the experimental data (respectively 20 and 30 plates with different standard deviations). The thick red solid lines are theoretical transmissions. The thin solid black lines are models only taking into account stochastic resonance. Black lines in (**B**) are other simulations: Bloch wave (dashed), Bethe theory (dotted) and CDWE (dash-dotted). Fitting parameters are for  $L = 300 \mu\text{m}$  (**A**):  $\sigma_M = 10.3 \mu\text{m}$ ,  $\omega = 22.0 \mu\text{m}$ ,  $\sigma_0 = 37.1 \mu\text{m}$  and  $\Delta\sigma = 7.2 \mu\text{m}$ ; for  $L = 400 \mu\text{m}$  (**B**):  $\sigma_M = 15.3 \mu\text{m}$ ,  $\omega = 9.1 \mu\text{m}$ ,  $\sigma_0 = 42.8 \mu\text{m}$  and  $\Delta\sigma = 4.1 \mu\text{m}$ .

FIG. 4: (**A**) Fano model of a subwavelength hole array with a continuum of states interacting with a discrete resonant state. (**B**) Fano model including Array Enhanced Stochastic Resonance (AESR).

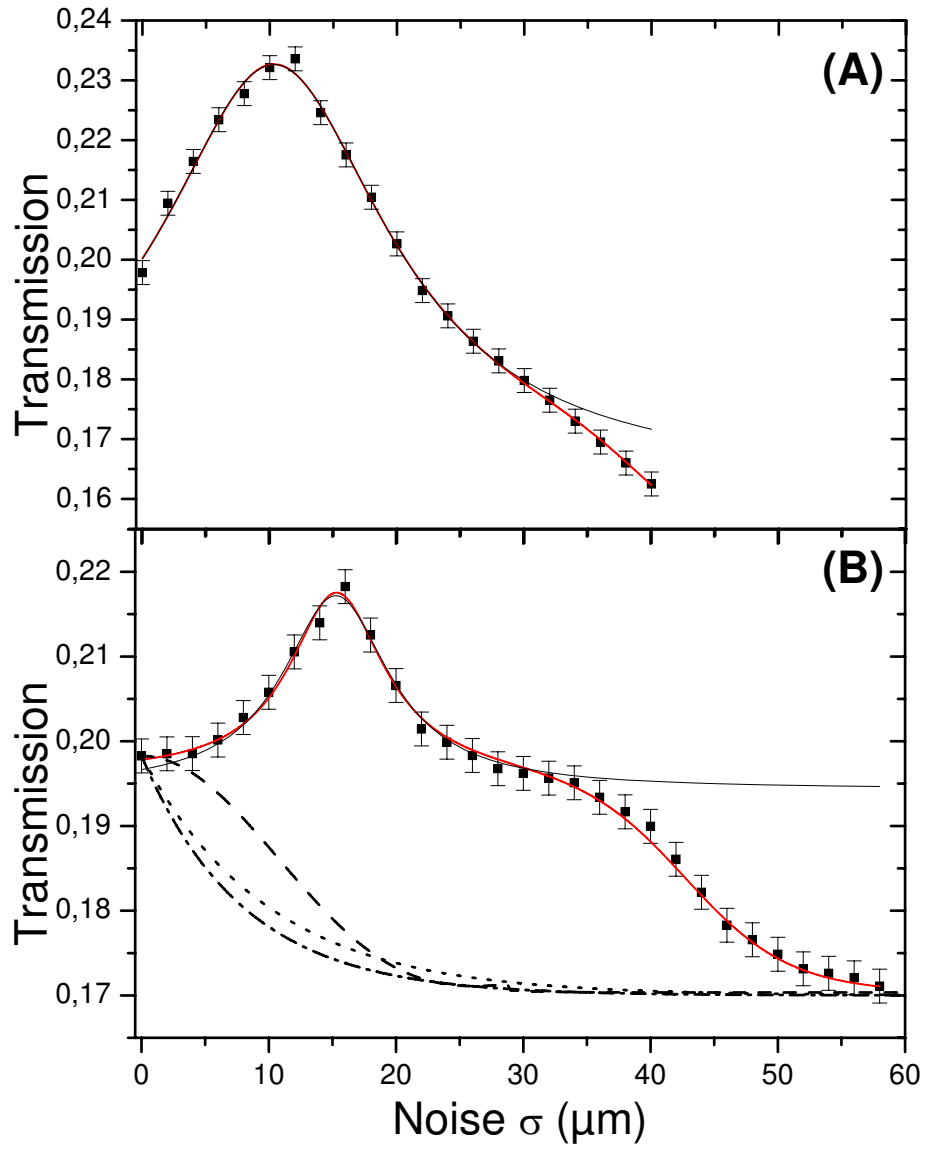


Masson et al. Figure 1



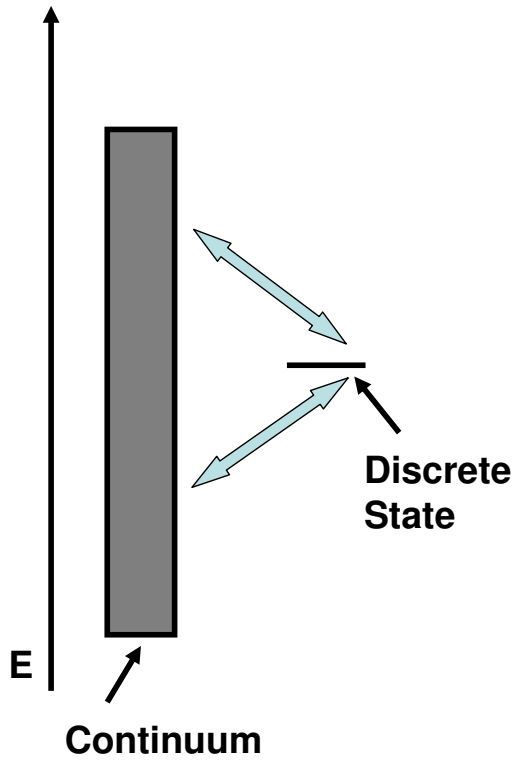


Masson et al. Figure 2

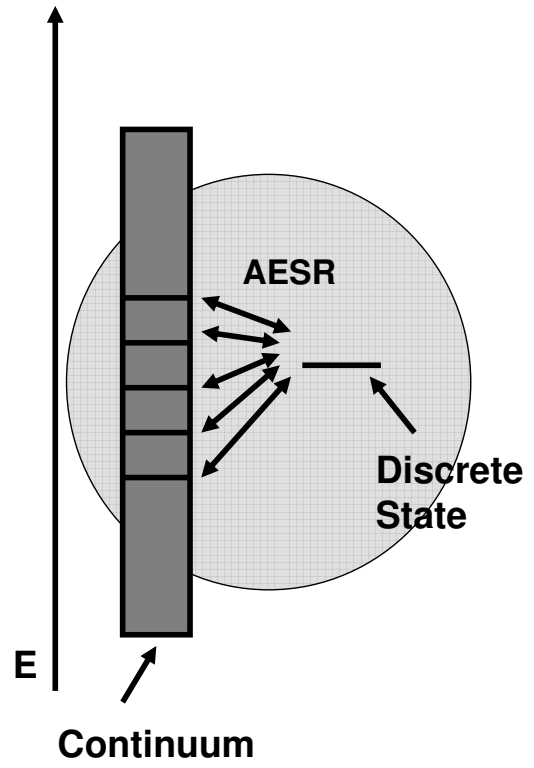


Masson et al. Figure 3

**(A)**



**(B)**



Masson et al. Figure 4